

PCT/EPO 3 / 06471

Mod. C.E. - 1-4-7

PCT/EPO3/06471

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

Ufficio G2

REC'D 24 OCT 2003

WIPO

PCT

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**

N. FI2002 A 000107

EPO - DG 1

03.10.2003



Si dichiara che l'unica copia è conforme ai documenti originali depositati con la domanda di brevetto supraspecificata, i cui dati risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

93

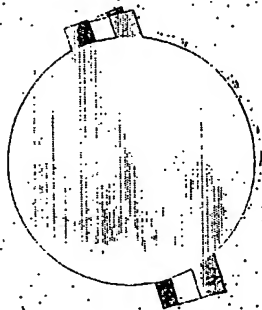


1 LUG. 2003

ma, li

IL DIRIGENTE

P. L. L. *[Signature]*



**PRIORITY
DOCUMENT**

SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO
UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA
DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO

A. RICHIEDENTE (I) GUARNA ANTONIO

1) Denominazione SEANO (CARMIGNANO) (PO) codice GRNTAS0B10C352K

Residenza COZZOLINO FEDERICO

2) Denominazione CALDINE - FIESOLE (FI) codice CZZERC52R24175AL

Residenza

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome Brazzini Silvia cod fiscale

denominazione studio di appartenenza NOTARBARTOLO & GERVASI S.P.A.

via Lungarno Amerigo Vespucci n. 24 città FIRENZE cap 50123 (prov) FI

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via n. città cap (prov)

D. TITOLO classe proposta (naz/d/isd) gruppo/sottogruppo

Composizioni farmaceutiche atte all'uso nel trattamento di patologie correlate all'azione di neurotrofine e composti attivi in esse contenuti.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒ SE ISTANZA: DATA N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI cognome nome

1) GUARNA Antonio 3) TORCIA Maria

2) COZZOLINO Federico 4) GARACI-Enrico

F. PRIORITÀ

nazione e organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/R
1)				
2)				

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

GUARNA ANTONIO (40%)

COZZOLINO FEDERICO (20%)

TORCIA MARIA (20%)

GARACI ENRICO (20%)

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.	Doc.	Descrizione
1)	<input checked="" type="checkbox"/> PRO	riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
2)	<input checked="" type="checkbox"/> PRO	disegno (obbligatorio se citato la descrizione, 1 esemplare)
3)	<input checked="" type="checkbox"/> A	lettera d'incarico, procura e riferimento procura generale
4)	<input checked="" type="checkbox"/> RIS	designazione inventore
5)	<input checked="" type="checkbox"/> RIS	documenti di priorità con traduzione in italiano
6)	<input checked="" type="checkbox"/> RIS	autorizzazione o atto di cessione
7)	<input checked="" type="checkbox"/> RIS	nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale Lire. Euro Quattrocentosettantadue/56= obbligatorio

COMPILATO IL 19/06/2002 FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE (I) Notario

CONTINUA SI/NO SI NOTARBARTOLO & GERVASI spa

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO I. A. A. DI

FIRENZE

codice 48

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

FI 2002A 000107

L'anno milienovecento

DURMILADUE

il giorno

DICIANNOVE

del mese di

GIUGNOil(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 01 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

NESSUNA

IL DEPOSITANTE

Legnani R.

L'UFFICIALE ROGANTE



FOGLIO AGGIUNTIVO n. 01 di totali 01

DOMANDA N. _____ REG. A

A. RICHIEDENTE (1)

N.G.

Q3 Denominazione TORCIA MARIA [RE]

Residenza FIRENZE codice TRCMPA58C64C352M [RE]

Q4 Denominazione GARACI ENRICO [RE]

Residenza ROMA codice GRCNRC42D23H501D [RE]

Denominazione [RE]

Residenza [RE] codice [RE]

Denominazione [RE]

Residenza [RE] codice [RE]

Denominazione [RE]

Residenza [RE] codice [RE]

Denominazione [RE]

Residenza [RE] codice [RE]

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]
[RE]	[RE]

F. PRIORITÀ

nazione e organizzazione	tipo di priorità	numero di domanda	data di deposito	allegato S/N
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]	[RE]	[RE]	[RE]/[RE]/[RE]	[RE]

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data N° Protocollo

[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]/[RE]/[RE]	[RE]
[RE]/[RE]/[RE]	[RE]

FIRMA DEL (1) RICHIEDENTE (1)

NOTAR BARTOLO & GERVA SI spa

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

REG. A

DATA DI DEPOSITO

DATA DI RILASCIO

NUMERO BREVETTO

A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

GUARNA ANTONIO

Residenza

SEANO (CARMIGNANO) (PO)

B. TITOLO

Composizioni farmaceutiche atte all'uso nel trattamento di patologie correlate all'azione di neurotrofine e composti
attivi in esse contenuti

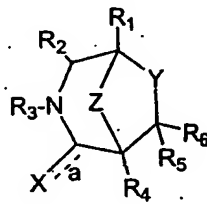
Classe proposta (sez./cl./scd/)

(gruppo/sottogruppo)

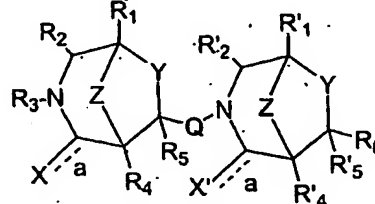
H 2002A 000107

L. RIASSUNTO

La presente invenzione è relativa a composizioni farmaceutiche comprendenti come composti attivi derivati di 3-azabicyclo [3.2.1] ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II)



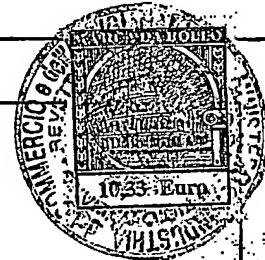
I



II

che hanno attività agonista di neurotrofine umane, o attività antagonista nei confronti di Nerve Growth Factor (NGF) umano, e sono pertanto utili nel trattamento di patologie in cui sono coinvolte per difetto o per eccesso le funzioni delle neurotrofine, in particolare del NGF; ad esempio: le malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale, le malattie da immunodeficienza acquisita riferibili a ridotta biodisponibilità di NGF, o condizioni morbose in cui sia vantaggioso stimolare il processo della neoangiogenesi.

M. DISEGNO



CAMERA DI COMMERCIO INDUSTRIA
E AGRICOLTURA
MILANO
Ufficio Servizi
Il Funzionario

Descrizione dell'invenzione industriale dal titolo :

FI 2002A000107

"Composizioni farmaceutiche atte all'uso nel trattamento di patologie correlate all'azione di neurotrofine e composti attivi in esse contenuti"

Titolare : Antonio GUARNA (40%)

residente in: Seano - Carmignano (PO)

Titolare: Federico COZZOLINO (20%)

residente in: Caldine - Fiesole (FI)

Titolare: Maria TORCIA (20%)

residente in : Firenze

Titolare: Enrico GARACI (20%)

residente in : Roma

Inventori designati : Antonio GUARNA, Federico COZZOLINO, Maria TORCIA, Enrico GARACI

Depositata il con il n°

* * * * *

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce a composizioni farmaceutiche comprendenti derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani e loro dimeri di formule (I) e (II) più avanti riportate, e al loro uso nel trattamento di patologie correlate ad alterata funzione di neurotrofine, e in particolare del Nerve Growth Factor, da qui in poi indicato con la sigla NGF.

STATO DELL'ARTE

Numerose proteine e fattori polipeptidici regolano la crescita e/o la sopravvivenza delle cellule. Il primo di questi fattori che sia stato identificato e caratterizzato funzionalmente è il NGF. Successivamente

FI 2002A000107

sono state identificate altre proteine appartenenti alla stessa famiglia del NGF che svolgono la loro attività su popolazioni diverse di cellule nervose; queste proteine vengono genericamente identificate come "neurotrofine".

Il NGF, attraverso l'interazione con specifici recettori di membrana, è in grado di prevenire la morte neuronale sia durante lo sviluppo embrionale che durante la vita adulta. E' stato dimostrato che la somministrazione di NGF è vantaggiosa nel contesto di situazioni patologiche come malattie degenerative e ischemiche del sistema nervoso centrale, lesioni spinali e tossicità da aminoacidi eccitatori. Il NGF, infatti, insieme ad altri fattori neurotrofici, promuove la rigenerazione nervosa, ed incrementa le funzioni neuronali.

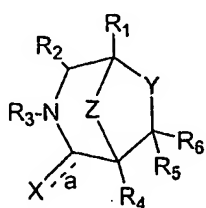
Le applicazioni terapeutiche del NGF sono state limitate dalla scarsa penetrazione del fattore nella barriera emato-encefalica centrale, attribuibile in parte alla dimensione del fattore nativo. Lo sviluppo di molecole non peptidiche capaci di mimare specificamente l'attività del ligando naturale costituisce pertanto un approccio utile per ovviare a tali limitazioni. Alcune molecole non peptidiche si sono dimostrate in grado di mimare sia la funzione di sopravvivenza che la funzione di crescita neuritica indotte da NGF. Tra queste alcuni esempi sono: a) gli esteri del forbolo, che mimano l'attività neurotrofica di NGF presumibilmente influenzando l'attività della PKC α ; b) gangliosidi ed altri lipidi non strutturalmente collegati, che promuovono la crescita neuritica da neuroni della radice dorsale e neuroni simpatetici. c) Triap (1,1,3-triciano-2-ammino-1-propene), una piccola molecola con attività di

sopravvivenza e induzione di crescita neuritica in cellule PC12. In tutti questi casi, l'attività delle molecole non è mediata dalla interazione con i recettori del NGF; la scoperta di nuove molecole non peptidiche in grado di interagire con i recettori specifici comportandosi pertanto come fattori agonisti delle neurotrofine umane, o antagonisti nei confronti di NGF è quindi di notevole importanza dal momento che esse possono essere utilizzate come farmaci per il trattamento di patologie correlate all'azione difettiva o eccessiva delle neurotrofine.

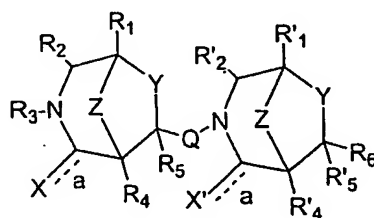
SOMMARIO DELL'INVENZIONE

Ora i Richiedenti hanno sorprendentemente trovato che derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) sotto riportate, presentano attività agonista di neurotrofine umane, o attività antagonista nei confronti di NGF umano, e possono quindi essere utilizzati per preparare composizioni farmaceutiche utili nel trattamento di patologie correlate all'azione delle neurotrofine, e in particolare del NGF.

Rappresentano pertanto oggetto della presente invenzione le composizioni farmaceutiche comprendenti come principio attivo almeno uno tra i derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottano di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II)



I



II

dove:

R_1 e R'_1 , uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, eterociclo, aril C_{1-8} alchile; eterociclo C_{1-8} alchile; RR'_N - C_{1-8} alchile, RR'_N -arile, FmocNR'-arile, BocNR'-arile, CbzNR'-arile, RO-arile, R(O)C-arile, RO(O)C-arile, RR'_N (O)C-arile; FmocNR'- C_{1-8} alchile, BocNR'- C_{1-8} alchile, CbzNR'- C_{1-8} alchile, FmocNR'- C_{1-8} arile, BocNR'- C_{1-8} arile e CbzNR'- C_{1-8} arile,

R_2 e R'_2 , uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, aril C_{1-8} alchile, eterociclo C_{1-8} alchile, amino C_{1-8} alchile, amminoarile, C_{1-8} alchilossiarile, idrossiarile, carbossiarile, carboalchilossiarile, alchilcarbamoilarile e -(catene laterali di amminoacidi), oppure

R_1 e R_2 , presi insieme ed R'_1 e R'_2 presi insieme, formano un gruppo C_{1-4} alchile, C_{2-4} alchenil, cicloalchile o cicloalchile benzofuso, per formare un ponte di 3, 4, 5 o 6 termini,

R_3 è scelto nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, aril C_{1-8} alchile, eterociclo C_{1-8} alchile, RR'_N C_{1-8} alchile, RR'_N arile, RO- C_{1-8} alchile, RO(O)C- C_{1-8} alchile, R(O)C- C_{1-8} alchile, RC(O)O- C_{1-8} alchile, RC(O)N(R) C_{1-8} alchile, RO-arile, RO(O)C-arile, R(O)C-aril RC(O)O-arile, RC(O)N(R)arile, -CH(catene laterali di amminoacidi)CO₂R, -CH(catene laterali di amminoacidi)C(O)NR, -CH(CO₂R)-catene laterali di amminoacidi, CH(CONRR')-catene laterali di amminoacidi, Fmoc, Boc e Cbz,



H 2002 A 000107

R_4 , R'_4 , R_5 , e R'_5 , uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, eterociclo, aril C_{1-8} alchil e eterociclo C_{1-8} alchile,

R_6 è scelto nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenil, C_{2-8} alchinil, cicloalchile, arile, aril C_{1-8} alchile, eterociclo, eterociclo C_{1-8} alchil; -C(O)R, -C(O)OR, -C(O)NRR', CH_2OR , CH_2NRR' , -C(O)NH-CH(catene laterali di amminoacidi)C(O)OR, CH_2NR -Fmoc, CH_2NR -Boc e CH_2NR -CBz,

R e R', uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenil, C_{2-8} alchinil, cicloalchile, arile, eterociclo, aril C_{1-8} alchil; eterociclo C_{1-8} alchil; gruppo di protezione, -C(O)CH-(catene laterali di amminoacidi)-NHT, -NH-CH(catene laterali di amminoacidi)COOT e -CH(catene laterali di amminoacidi)COOT,

dove T è scelto tra H e C_{1-8} alchile;

X ed X', uguali o diversi tra loro, sono scelti tra O e S, quando a è doppio legame, oppure

X ed X' sono entrambi H, se a è legame singolo,

Y e Z, uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di O,

S, SO, SO₂ e N-R, dove R è definito come sopra,

Q è scelto nel gruppo consistente di C=O, CH₂ e CO-NH-CH(catene laterali di amminoacidi)-CO,

e dove i gruppi alchile, alchenile, alchinile, cicloalchile, arile e i gruppi eterociclici sopra riportati, possono essere eventualmente sostituiti.

Costituiscono ulteriore oggetto dell'invenzione i nuovi derivati 3-azabicyclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) sopra riportate.

Ulteriore oggetto dell'invenzione è l'uso dei derivati 3-azabicyclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) sopra riportate per la preparazione di composizioni farmaceutiche adatte al trattamento di:

i) malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale, come la malattia di Alzheimer, la sclerosi laterale amiotrofica (ALS), malattia di Huntington, neuropatie, danni neurali secondari ad ipossia, ischemia o trauma che inducono apoptosi delle cellule nervose, o;

ii) malattie da immunodeficienza acquisita riferibili a ridotta biodisponibilità di NGF, quali l'immunodeficienza dell'anziano;

iii) malattie in cui sia vantaggioso stimolare il processo della neoangiogenesi, quali l'infarto del miocardio, l'ictus e le vasculopatie periferiche;

iv) talune patologie oculari, quali cheratiti di varia eziologia e glaucoma.

Le caratteristiche ed i vantaggi delle composizioni farmaceutiche secondo l'invenzione saranno illustrati in dettaglio nella seguente descrizione.

DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Nell'ambito della presente invenzione con "catene laterali di amminoacidi" si indicano le catene laterali di L o D alfa amminoacidi naturali o di amminoacidi rari o non naturali.

Quando non altrimenti specificato, i termini alchile, alchenile, alchinile, arile, arilalchile, cicloalchile ed eterociclico, come utilizzati nella presente invenzione, dovrebbero intendersi come segue:

- i termini "alchile", "alchenile" e "alchinile" si riferiscono a catene idrocarburiche, lineari o ramificate, aventi rispettivamente solo legami semplici, almeno un doppio legame o almeno un triplo legame. Esempi di gruppi alchilici secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, metile, etile, propile, iso-propile, n-butile, iso-butile, tert-butile, pentile, isopentile, neopentile, tert-pentile. Esempi di gruppi alchenilici secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, etenile, propenile, 1-butenile, cis-2-butenile, trans-2-butenile, 2-metil-1-propenile, 1-pentenile, cis-2-pentenile, trans-2-pentenile, 2-metil-2-butenile. Esempi di gruppi alchinilici secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, etinile, propinile, 1-butinile, 2-butinile, 1-pentinile, 3-metil-1-butinile.
- con il termine "arile" si indica un gruppo contenente uno o più anelli insaturi, ciascun anello avente da 5 a 8 membri, e preferibilmente 5 o 6 membri. Esempi di gruppi arilici secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, benzile, toluile, naftile, antracenile, fenantrile, fluorenile, coronenile, trifenilenile, pirenile e benzopirenile;
- con il termine "cicloalchile" si indica un anello costituito da atomi di carbonio, generalmente avente da 3 a 8 membri e preferibilmente da 5 a 6 membri. Esempi di gruppi cicloalchilici includono ma non sono limitati a, ciclopropile, ciclobutile, ciclopentile, cicloesile, cicloeptile e cicloottile;
- il termine "eterociclo" si riferisce a gruppi arilici aventi uno o più atomi diversi dal carbonio nell'anello, generalmente aventi da 3 a 8 membri e

preferibilmente 5 o 6 membri. Esempi di eterocicli secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, tienile, furanile, piranile, 2H-pirrolile, imidazolile, pirazolile, piridile, pirazinile, pirimidile, piridazinile, isotiazolile, isossazolile, furazanile, benzotienile, isobenzofuranile e indolile.

- con il termine "arilalchile" si indica un gruppo avente un sostituyente alchilico ed un sostituyente arilico come sopra definito. Esempi di arilalchili secondo l'invenzione includono, ma non sono limitati a, etilbenzenile, isobutilbenzenile, benzile, etilbenzile, propilbenzile, isopropilbenzile, butilbenzile, isobutilbenzile, cicloesilbenzile, stirenile e bifenile.

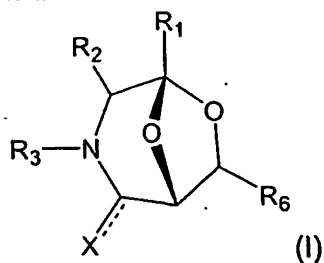
Nella presente invenzione i gruppi fluorenilmetossicarbonile, t-butilossicarbonile, carbossibenzile, benzile, fenile e acetile sono rispettivamente indicati ricorrendo alle sigle comunemente usate Fmoc, Boc, Cbz, Bn, Ph e Ac.



Fra i composti di formula generale (I) e (II) secondo l'invenzione, gli specifici composti riportati nelle seguenti Tabelle 1-3 risultano di particolare interesse per la loro attività agonista di neurotrofine, in particolare di NGF, o antagonista nei confronti di NGF umano; e sono pertanto i composti utilizzati di preferenza per la preparazione delle composizioni farmaceutiche secondo l'invenzione.

Tabella 1

H 2007A 000107








Composto	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₆
1	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
2	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
3	O	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 
4	O	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 
5	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
6	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
7	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
8	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
9	O	H	(R) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
10	O	H	(R) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
11	O	H	(S) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
12	O	H	(S) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
13	O	H	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
14	O	H	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
15	O	H	(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
16	O	H	(R)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
17	O	H	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
18	O	H	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me

19	O	H	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
20	O	H	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
21	O	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
22	O	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
23	O	H	(R)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
24	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
25	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
26	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH(CH ₂) ₂ OH
27	O	Ph	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
28	O	Ph	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
29	O	Ph	H	CH(Ph) ₂	(R) -CO ₂ Me
30	O	Ph	H	CH(Ph) ₂	(S) -CO ₂ Me
31	O	NO ₂ -Ph	H	Ph	(S)-CO ₂ Me
32	H	H	H	H	(R) -CO ₂ H
33	H	H	H	H	(S) -CO ₂ H
34	H	H	H	H	(R) -CO ₂ Me
35	H	H	H	H	(S) -CO ₂ Me
36	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ H
37	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ H
38	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ H
39	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ H
40	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
41	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
42	H	H	H	Boc	(R) -CO ₂ Me

H 9000A000107

43	H	H	H	Boc	(S) -CO ₂ Me
44	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
45	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
46	H	H	H	H	(R) -CONHMe
47	H	H	H	H	(S) -CONHMe
48	H	H	H	Ac	(R) -CONHMe
49	H	H	H	Ac	(S) -CONHMe
50	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CONHMe
51	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CONHMe
52	H	H	H	Fmoc	(R) -CONHMe
53	H	H	H	Fmoc	(S) -CONHMe
54	H	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 
55	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH 
56	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CON 
57	H	H	H	PhCH ₂	(R)-CONH(CH ₂) ₂ OH
58	H	H	H	H	(R) -CH ₂ OH
59	H	H	H	H	(S) -CH ₂ OH
60	H	H	H	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
61	H	H	H	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
62	H	H	H	Boc	(R) -CH ₂ OH
63	H	H	H	Boc	(S) -CH ₂ OH
64	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH

65	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
66	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
67	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
68	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
69	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
70	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
71	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
72	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
73	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
75	H	H	(S) -COOH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
76	H	H	(S) -COOH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
77	H	H	(R) -COOH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
78	H	H	(R) -COOH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
79	H	H	(S) -CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
80	H	H	(S) -CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
81	H	H	(R) -CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
82	H	H	(R) -CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
83	H	H	(S) -CH ₂ OBn	H	(R) -CO ₂ Me
84	H	H	(S) -CH ₂ OBn	H	(S) -CO ₂ Me
85	H	H	(R) -CH ₂ OBn	H	(R) -CO ₂ Me
86	H	H	(R) -CH ₂ OBn	H	(S) -CO ₂ Me
87	H	H	(S) -CH ₂ OH	H	(R) -CO ₂ Me
88	H	H	(S) -CH ₂ OH	H	(S) -CO ₂ Me
89	H	H	(R) -CH ₂ OH	H	(R) -CO ₂ Me
90	H	H	(R) -CH ₂ OH	H	(S) -CO ₂ Me



91	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
92	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
93	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
94	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
95	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
96	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
97	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
98	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
99	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
100	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
101	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
102	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
103	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
104	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
105	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
106	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
107	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
108	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
109	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
110	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
111	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
112	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
113	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
114	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
115	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH

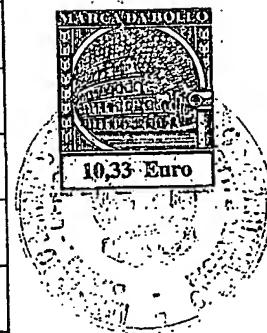
H 9000000107

H 21 07 A 000107

116	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
117	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R) -CH ₂ OH
118	H	Ph	H	H	(R) -CO ₂ Me
119	H	Ph	H	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
120	H	Ph	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
121	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(R) -CO ₂ Me
122	H	Ph	H	H	(S) -CO ₂ Me
123	H	Ph	H	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
124	H	Ph	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
125	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(S) -CO ₂ Me
126	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOMe
127	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOH
128	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONHCH ₂ CO ₂ Me
129	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)- NH ₂) C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CO ₂ Me
130	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)N H ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CO ₂ H
131	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)- NH ₂) C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONH- Lys(NHBoc)-OMe
132	H	p-NH- (Asp(OH)- NH ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONH-Lys-OMe

[illegible]

158	H	H	(R) -Me	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
159	H	H	(R) -Me	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
160	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
161	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
162	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
163	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
164	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
165	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
166	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
167	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
168	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
169	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
170	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
171	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
172	H	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
173	H	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
174	H	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
175	H	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
176	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(R) -CO ₂ Me
177	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(S) -CO ₂ Me
178	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(R) -CO ₂ Me
179	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(S) -CO ₂ Me
180	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
181	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
182	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH

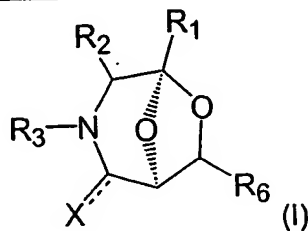


183	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
184	H	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
185	H	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
186	H	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
187	H	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH

H 2017 A 230107

Tabella 2

FI 2002A000107.



Composto	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₆
188	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
189	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
190	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
191	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
192	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
193	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
194	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
195	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
196	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
197	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
198	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
199	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
200	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
201	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
202	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CONHMe
203	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CONHMe
204	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CONHMe
205	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CONHMe

231	H	H	(R)-Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
232	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
233	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
234	H	H	(S)- PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
235	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
236	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
237	H	H	(R)- PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
238	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
239	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
240	H	H	(S)- PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
241	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
242	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
243	H	H	(R)- PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
244	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
245	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
246	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
247	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
248	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
249	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
250	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
251	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
252	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
253	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
254	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
255	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me

H 200107



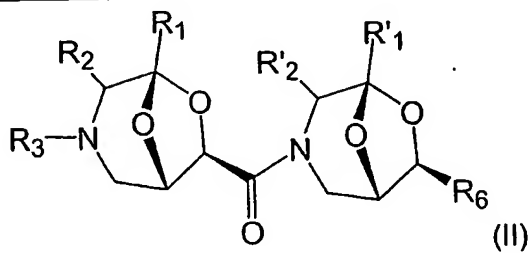
256	H	H	(S)-CH ₂ OH	Fmoc	(R)-CO ₂ Me
257	H	H	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
258	H	H	(S)-CH ₂ OBn	Fmoc	(R)-CO ₂ Me
259	H	H	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R)-CO ₂ Me
260	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R)-CO ₂ Me
261	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R)-CO ₂ Me
262	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S)-CO ₂ Me
263	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S)-CO ₂ Me
264	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R)-CO ₂ Me
265	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R)-CO ₂ Me
266	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S)-CO ₂ Me
267	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S)-CO ₂ Me
268	H	H	(S)-Me	H	(R)-CH ₂ OH
269	H	H	(S)-Me	Bn	(R)-CH ₂ OH
270	H	H	(S)-Me	Fmoc	(R)-CH ₂ OH
271	H	H	(R)-Me	H	(R)-CH ₂ OH
272	H	H	(R)-Me	Bn	(R)-CH ₂ OH
273	H	H	(R)-Me	Fmoc	(R)-CH ₂ OH
274	H	H	(S)-Me	H	(S)-CH ₂ OH
275	H	H	(S)-Me	Bn	(S)-CH ₂ OH
276	H	H	(S)-Me	Fmoc	(S)-CH ₂ OH
277	H	H	(R)-Me	H	(S)-CH ₂ OH
278	H	H	(R)-Me	Bn	(S)-CH ₂ OH
279	H	H	(R)-Me	Fmoc	(S)-CH ₂ OH
280	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R)-CH ₂ OH

281	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
282	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
283	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R) -CH ₂ OH
284	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
285	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
286	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(S) -CH ₂ OH
287	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
288	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
289	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(S) -CH ₂ OH
290	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
291	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
292	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(R) -CH ₂ OH
293	H	H	(S) -PhCH ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
294	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
295	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(R) -CH ₂ OH
296	H	H	(R) -PhCH ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
297	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
298	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(S) -CH ₂ OH
299	H	H	(S) -PhCH ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
300	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
301	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(S) -CH ₂ OH
302	H	H	(R) -PhCH ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
303	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
304	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
305	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH

H 7000 A 000107

306	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
307	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
308	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
309	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
310	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
311	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
312	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
313	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
314	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
315	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
316	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
317	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
318	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
319	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH

Tabella 3



Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R' ₁	R' ₂	R ₆
320	H	H	H	H	H	CO ₂ Me
321	H	H	H	H	H	CONHMe
322	H	H	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me

323	H	H	PhCH ₂	H	H	CONHMe
324	H	H	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
325	H	H	Fmoc	H	H	CONHMe
326	H	H	Boc	H	H	CO ₂ Me
327	H	H	Boc	H	H	CONHMe
328	H	PhCH ₂	H	H	H	CO ₂ Me
329	H	PhCH ₂	H	H	H	CONHMe
330	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me
331	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	H	CONHMe
332	H	PhCH ₂	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
333	H	PhCH ₂	Fmoc	H	H	CONHMe
334	H	PhCH ₂	Boc	H	H	CO ₂ Me
335	H	PhCH ₂	Boc	H	H	CONHMe
336	H	H	H	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
337	H	H	H	H	PhCH ₂	CONHMe
338	H	H	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
339	H	H	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CONHMe
340	H	H	Fmoc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
341	H	H	Fmoc	H	PhCH ₂	CONHMe
342	H	H	Boc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
343	H	H	Boc	H	PhCH ₂	CONHMe
344	H	PhCH ₂	H	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
345	H	PhCH ₂	H	H	PhCH ₂	CONHMe
346	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
347	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CONHMe

FI 2007 A 000107



348	H	PhCH ₂	Fmoc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
349	H	PhCH ₂	Fmoc	H	PhCH ₂	CONHMe
350	H	PhCH ₂	Boc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
351	H	PhCH ₂	Boc	H	PhCH ₂	CONHMe
352	Ph	H	H	H	H	CO ₂ Me
353	Ph	H	H	H	H	CONHMe
354	Ph	H	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me
355	Ph	H	PhCH ₂	H	H	CONHMe
356	Ph	H	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
357	Ph	H	Fmoc	H	H	CONHMe
358	Ph	H	Boc	H	H	CO ₂ Me
359	Ph	H	Boc	H	H	CONHMe
360	H	H	H	Ph	H	CO ₂ Me
361	H	H	H	Ph	H	CONHMe
362	H	H	PhCH ₂	Ph	H	CO ₂ Me
363	H	H	PhCH ₂	Ph	H	CONHMe
364	H	H	Fmoc	Ph	H	CO ₂ Me
365	H	H	Fmoc	Ph	H	CONHMe
366	H	H	Boc	Ph	H	CO ₂ Me
367	H	H	Boc	Ph	H	CONHMe
368	Ph	H	H	Ph	H	CO ₂ Me
369	Ph	H	H	Ph	H	CONHMe
370	Ph	H	PhCH ₂	Ph	H	CO ₂ Me
371	Ph	H	PhCH ₂	Ph	H	CONHMe
372	Ph	H	Fmoc	Ph	H	CO ₂ Me

H 9000A 300107

373	Ph	H	Fmoc	Ph	H	CONHMe
374	Ph	H	Boc	Ph	H	CO ₂ Me
375	Ph	H	Boc	Ph	H	CONHMe
376	H	H	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
377	H	H	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
378	H	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
379	H	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
380	H	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
381	H	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe
382	H	H	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
383	H	H	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe
384	H	PhCH ₂	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
385	H	PhCH ₂	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
386	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
387	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
388	H	PhCH ₂	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
389	H	PhCH ₂	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe
390	H	PhCH ₂	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
391	H	PhCH ₂	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe
392	Ph	H	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
393	Ph	H	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
394	Ph	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
395	Ph	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
396	Ph	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
397	Ph	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe

398	Ph	H	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
399	Ph	H	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe

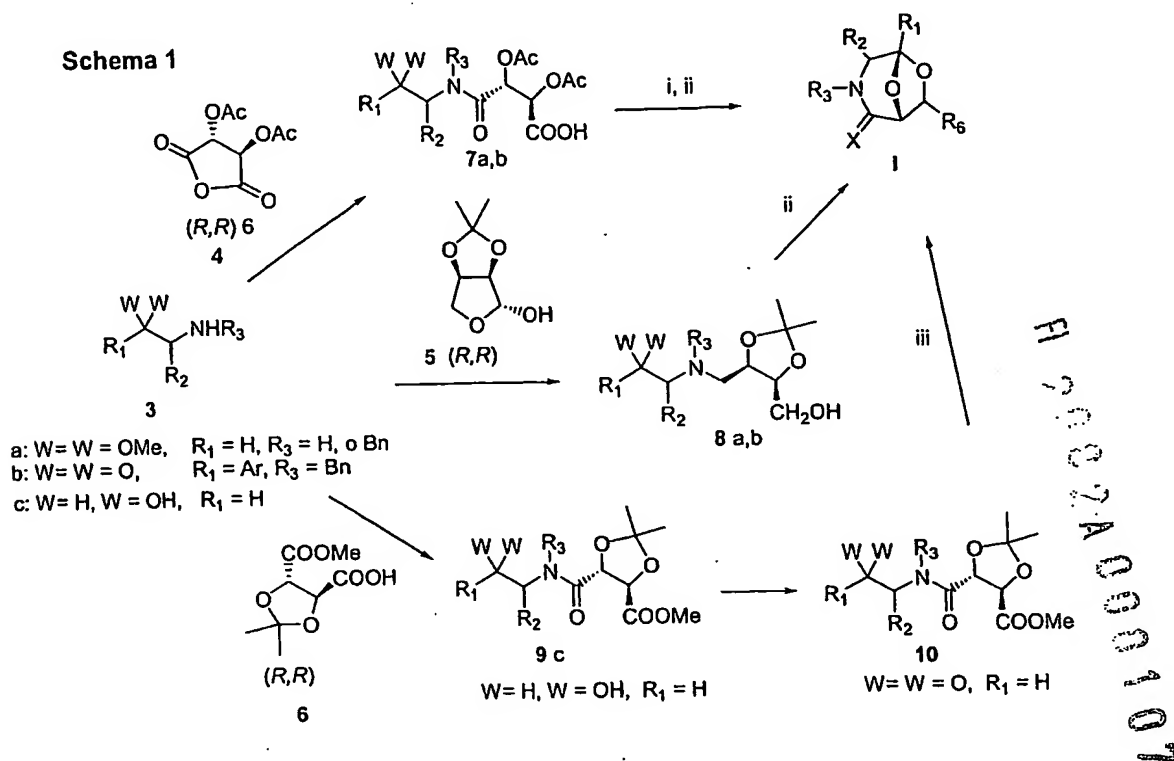
La presente invenzione si riferisce inoltre ai derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani e loro dimeri che sono stati preparati dai Richiedenti e descritti qui per la prima volta; si tratta dei derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani e loro dimeri di formule generali (I) e (II) sopra riportate e definiti come sopra, ad esclusione dei composti - 1,2,5,7,8,9,10,12,13,17,19,20,21,32,34,35,36,38,40,44,58,60,64,65,66,70,75,76,77,78,79,83,87,91,95,99,101,103,138,145,152,154,163,164,168,172,174,176,178,184,186,190,320,322.

I composti sopra elencati sono infatti già stati descritti in *J. Org. Chem.* 1999, 64, 7347, *Organic Letters*, 2000, 2, 3987-3990, *Bioorganic & Med Chem* 2001, 9, 1625,-1632, *Eur. J. Org. Chem.* 2002, 873-880, nella Domanda di Brevetto Europeo N. 00104135.9-2117 e nella Domanda di Brevetto Internazionale N. WO 01/64686; in tali documenti sono descritti inoltre i metodi di preparazione di questi composti.

I nuovi derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) possono essere preparati con il seguente processo.

I nuovi composti di formula generale (I) ed i corrispondenti dimeri di formula (II), descritti per la prima volta nella presente domanda, possono essere preparati secondo la procedura descritta qui di seguito e rappresentata graficamente nel seguente Schema 1:

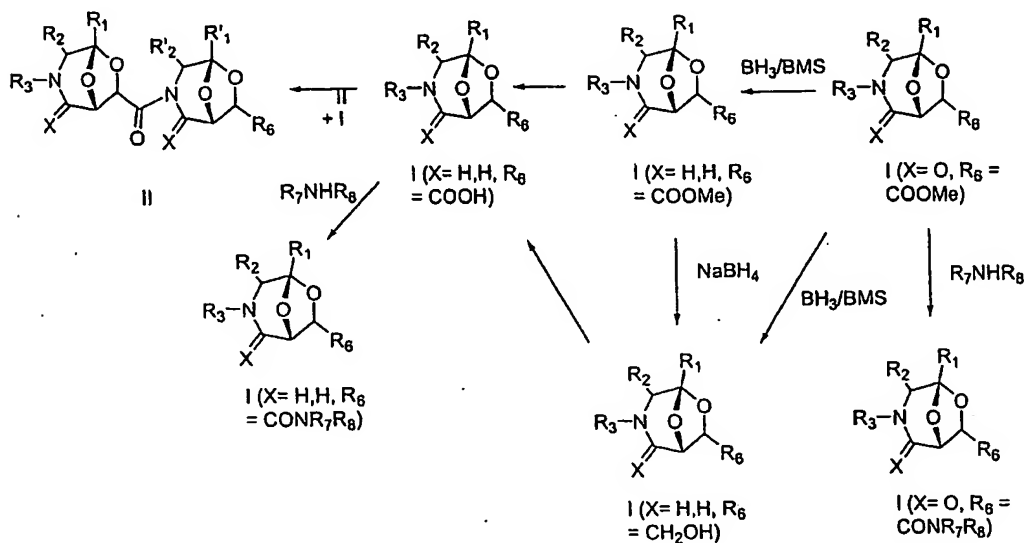
FI 700634000107



Alfa ammino aldeidi protette (3a) o alfa ammino chetoni (3b) o alfa amminoalcoli (3c) vengono fatti reagire con – derivati dell'acido tartarico attivati come ad esempio l'anidride diacetilossitartarica 4 (R, R o S,S), - o con derivati dell'acido tartarico come ad esempio il mono-metilestere protetto 6 (R, R o S,S), in presenza di agenti condensanti ed attivanti - o per amminazione riduttiva con derivati protetti dell'eritrolattolo 5 (R, R preparato da D-arabinosio o S,S preparato da L arabinosio). Si ottengono così le corrispondenti ammidi 7 e 9 (nello schema 1 sono evidenziati solo gli enantiomeri R, R, ma possono essere preparati in modo analogo gli enantiomeri S,S). o l'ammina 8 (nello schema è evidenziata solo R, S, ma può essere preparato in modo analogo il suo enantiomero S,R). Nel caso dell'amido alcol 9 si procede ad un'ossidazione per ottenere la corrispondente aldeide o chetone 10. Nel

caso in cui, nell'ammina **8**, R_3 sia H si può effettuare una protezione, come Fmoc. La successiva ciclizzazione dei composti **7**, **8** e **10** (Schema 1) avviene per per trattamento con SOCl_2 e MeOH (condizioni di reazioni i) seguito da trattamento acido con acido solforico adsorbito su SiO_2 in toluene a refluxo (condizioni di reazione ii) oppure per trattamento con acido trifluoro acetico (TFA) puro o in metilene cloruro (condizioni di reazione iii). Si ottengono così a partire dalle ammidi **7** e **10** i composti **I** in cui $X = O$ ed il gruppo $R_6 = -\text{COOMe}$ in configurazione *exo*. Nel caso dell'ammina **8** si ottengono i composti **I** in cui $X = H, H$ ed il gruppo $R_6 = -\text{CH}_2\text{OH}$ in configurazione *endo*. La configurazione *R,R* o *S,S* negli stereocentri sul carbonio 1 a testa di ponte e sul carbonio in 7 (portante il gruppo carbossilico o idrossimetile) dipenderà da quella dell'acido tartarico o dell'eritrolattolo di partenza. I composti **I** possono essere modificati secondo lo schema 2.

Schema 2



I composti di formula (I) di tipo ammidico, in cui $X = O$, possono essere ridotti, per azione del complesso BH_3 dimetil solfuro, sia ai corrispondenti ammino esteri I ($X = H$, H , $R_6 = COOMe$), che ai corrispondenti amminoalcoli I ($X=H$, H e $R_6 = CH_2OH$). Questi composti possono essere a loro volta deprotetti all'atomo di azoto. L'idrolisi dell'ammino estere I ($X = H$, H , $R_6 = COOMe$) può essere condotta sia in ambiente acido che basico, per dare il corrispondente amminoacido I ($X = H$, H , $R_6 = COOH$). L'amminoacido può anche essere ottenuto per ossidazione di Jones o con PDC in DMF degli amminoalcoli I ($X=H$, H e $R_6 = CH_2OH$), anche dopo aver cambiato il gruppo benzile in Boc o Fmoc. Per attivazione del gruppo carbossilico si può formare un legame ammidico con un'ammina NHR_7R_8 o un amminoacido. Oppure l'amminoacido carbossilico attivato I, può reagire con un'altra unità di I che abbia l'azoto deprotetto, per dare i dimeri di formula generale (II) presenti nella Tabella 3.

I presenti derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II), in forma libera o nella forma di sali farmaceuticamente accettabili, possono essere utilizzati per la preparazione di composizioni farmaceutiche seguendo metodi di preparazione convenzionali in campo farmacologico.

Tali composizioni farmaceutiche possono essere formulate in maniera convenzionale, e possono comprendere uno o più eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili.

La somministrazione di tali composizioni è attuabile mediante qualsiasi via di somministrazione convenzionale, ad esempio per via parenterale

FI
C
A
660107

in forma di soluzioni o sospensioni iniettabili, per via orale, per via topica, nasale, ecc.

Le formulazioni dei derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani e dei loro dimeri secondo l'invenzione includono compresse, capsule, pastiglie, soluzioni, dispersioni, sospensioni, formulazioni liposomali, microsfere, nanosfere, creme e unguenti, emulsioni e aerosol, e possono essere preparate anche in modo da realizzare un rilascio controllato o ritardato del principio attivo.

Tali composizioni farmaceutiche possono comprendere almeno uno tra i presenti composti di formula (I) e (II) come principio attivo, eventualmente in combinazione con altri principi attivi o coadiuvanti, scelti a seconda delle condizioni patologiche da trattare.

Le presenti composizioni farmaceutiche comprendenti i composti dell'invenzione sono adatte al trattamento farmacologico di condizioni patologiche correlate all'azione di neurotrofine.

I presenti derivati di 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) hanno mostrato infatti attività agonista o antagonista di neurotrofine, e in particolare di NGF, possedendo la proprietà di interagire con determinata affinità con il complesso recettoriale per NGF. I composti agonisti possiedono attività di induzione del segnale biologico presenti composti aventi attività agonista di neurotrofine possono essere usati, ad esempio, per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili nel trattamento di:

i) malattie neurodegenerative, infiammatorie, di natura tossica, traumatica o vascolare del sistema nervoso centrale, periferico o

autonomico (quali la malattia di Alzheimer, la sclerosi laterale amiotrofica, il morbo di Parkinson, la malattia di Huntington, la sclerosi multipla, l'epilessia, la sindrome di Down, la sordità nervosa, malattia di Menière), danni neurali secondari da ipossia, ischemia, ustioni, chemioterapia, tossici di varia natura (incluso l'alcoolismo), infezioni (quali quelle da virus poliomielitico o da HIV), traumi (compreso quelli chirurgici) dai quali deriva assotomia dei motoneuroni, neuropatie sensoriali, motòrie, sensorimotorie o disfunzioni autonome secondarie a patologie diverse (quali diabete, insufficienza renale o altre malattie sistemiche), disordini genetici (quali la malattia di Charcot-Marie-Tooth, la malattia di Refsum, la abetalipoproteinemia, la malattia di Tangier, la malattia di Krabbe, la leucodistrofia metacromatica, la malattia di Fabbry, la sindrome di Dejerine-Sottas), patologie nervose di diversa origine (quali l'atrofia diffusa della corteccia cerebrale, la demenza da lesioni del corpo di Lewy, la malattia di Pick, la demenza mesolimbocorticale, la lipofuscinosi cerioide neuronale, la degenerazione talamica, la degenerazione cortico-striatale-spinale, la degenerazione dei gangli cortico-basali, la degenerazione cerebro-cerebellare, la demenza familiare con paraparesi spastica, la malattia da corpi poliglucosanici, la sindrome di Shy-Drager, l'atrofia olivo-ponto-cerebellare, la paralisi progressiva sopranucleare, la distonia muscolare deformante, la sindrome di Hallervorden-Spatz, la sindrome di Meige, i tremori familiari, la sindrome di Gilles de la Tourette, la corea acantocitica, l'atassia di Fiedreich, l'atrofia cortico-cerebellare familiare di Holmes, la malattia di Gerstmann-Straussler-Scheinker, l'atrofia

07-06-2009
A.C.C.
H



muscolare spinale progressiva, la paraplegia spastica, l'atrofia muscolare peroneale, la polineuropatia ipertrofica interstiziale, l'eredopatia atassica polineuritiforme) alcune patologie oculari (quali le neuropatie del nervo ottico, la degenerazione retinica, l'oftalmoplegia, il glaucoma), le cheratopatie di natura diversa (quali le ulcere neurotrofiche, le condizioni post-infettive o post-traumatiche), malattie da ridotta motilità del tratto gastro-intestinale o da atonia della vescica urinaria, talune patologie a carico della vescica urinaria (quali la cistite interstiziale o la cistopatia diabetica), patologie tumorali endocrine (quali il prolattinoma), condizioni cliniche in cui sia utile incrementare l'apprendimento (in particolare, nelle demenze e nelle situazioni post-traumatiche), oltre a tutte le situazioni patologiche indotte da fenomeni apoptotici a carico di cellule neurali;

ii) patologie da immunodeficienza acquisita legate a ridotta o assente biodisponibilità di NGF (quale l'immunodeficienza dell'anziano);

iii) malattie in cui sia vantaggioso stimolare il processo della neoangiogenesi (quali infarto del miocardio, ictus, aneurismi cerebrali, ulcere gastro-duodenali, riparazione di ferite o vasculopatie periferiche);

iv) talune patologie oculari (cheratiti di diversa eziologia e glaucoma).

In generale, i presenti composti aventi attività agonista di neurotrofine, e in particolare di NGF, si sono rivelati adatti a sostituire neurotrofine e NGF nella loro azione biologica.

Inoltre, i presenti composti agonisti di neurotrofine possono essere utilizzati per promuovere la crescita e/o la sopravvivenza in vivo, in vitro o ex vivo di cellule neurali, incluse le seguenti, ma non limitatamente ad

Acc 0107

esse: neuroni dopaminergici, colinergici, sensoriali, cellule striatali, cellule della corteccia, cellule del corpo striato, dell'ippocampo, del cervelletto, dei bulbi olfattivi, cellule periacqueduttali, dei nuclei del rafe, del locus ceruleo, dei gangli della radice dorsale, neuroni simpatici, motoneuroni inferiori o cellule staminali nervose o comunque derivate dalla placca neurale.

Alcuni dei presenti 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) hanno mostrato un'azione antagonista di NGF e possono essere pertanto utilizzati per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili nel trattamento delle seguenti patologie:

- i) condizioni neoplastiche del Sistema Nervoso, generate dalla proliferazione di cellule dipendenti da NGF per la sopravvivenza, quali i neuroblastomi e altre simili neoplasie del SNC;
- ii) neoplasie quali il tumore della prostata o della mammella e il melanoma;
- iii) Neoplastiche solide per il trattamento delle quali sia utile ridurre il letto vascolare peritumorale, inibendo la funzione pro-angiogenetica del NGF;
- iv) sindromi asmatiche e malattie di natura autoimmune, ad esempio, ma non solo, dermatologiche o reumatologiche;
- v) AIDS.

I seguenti esempi sono riportati a scopo illustrativo e non limitativo della presente invenzione.

ESEMPIO 1

Preparazione di 3 benzil-2-osso,(1S,5S,7R)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-*exo*-carbossilato di metile I (composto 1) dove (dove X = O, R₁ = H, R₂ = Bn, R₆ = (R)-COOMe)

Una soluzione di anidride *R,R* tartarica 4 (4 g,) (preparata come riportato da Lucas H.J., Baumgarten W., *J.Am.Chem.Soc.*, 1941, 63, 1654) in metilene cloruro anidro (23 ml) e 3a (dove X = X = OMe, R₁ = H, R₂ = H R₃ = Bn,) (3 g,) preparato come riportato (Kermak, W. O.; Perkin, W. H.; Robinson, R. J. *Chem. Soc., Trans*, 1922, 121, 1872) vengono fatti reagire a temperatura ambiente per 15 h. Dopo evaporazione del solvente si ottiene il prodotto 7a (7 g), come olio. Al prodotto ottenuto 7a in CH₃OH (40 ml), viene aggiunto goccia a goccia cloruro di tionile (0.8 ml) a 0 °C e la miscela riscaldata a 60 °C per 15 h. Il prodotto grezzo ottenuto dopo evaporazione del solvente sciolto in toluene (8 ml) viene rapidamente aggiunto ad una sospensione di (1.6 g) H₂SO₄/SiO₂ (H₂SO₄, 30% in peso) in toluene 12.5 ml a riflusso. Dopo 15 min un terzo di solvente viene distillato via e la rimanente miscela calda filtrata su un piccolo strato di NaHCO₃. Dopo evaporazione del solvente, il prodotto grezzo fu purificato per cromatografia ottenendo puro I (dove X = O, R₁ = H, R₂ = Bn, R₆ = (R)-COOMe) (composto 1) (2.8. g). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.32-7.16 (m, 5H), 5.84 (d, J=2.0 Hz, 1H), 4.96 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.34 (dd, J₁=12.0 Hz, J₂=2.0 Hz, 2H), 3.08 (J=12.0 Hz, 1H). P.f. 82, [α]_D²⁵ = - 49 (c 1.0, CHCl₃)

ESEMPIO 2

Partendo da anidride *S,S* tartarica 4 si ottiene con la stessa procedura il 3 benzil-2-osso,(1R,5R,7S)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-*exo*-

carbossilato di metile I (composto 189) dove (dove $X = O$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (S)\text{-COOMe}$). ^1H NMR (CDCl_3) δ 7.40-7.10 (m, 5H), 5.85 (d, $J=2.0$ Hz, 1H), 4.97 (s, 1H), 4.74 (s, 1H), 4.52 (s, 2H), 3.79 (s, 3H), 3.34 (dd, $J_1=12.0$ Hz, $J_2=2.0$ Hz, 2H), 3.09 ($J=12.0$ Hz, 1H). P.f. 83, $[\alpha]^{25}_D = +48$ (c 1.0, CHCl_3)

ESEMPIO 3

Preparazione di 3 benzil-, (1S,5S,7R)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-*exo*-carbossilato di metile I (composto 40) dove (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$)

Una soluzione 1 M of $\text{BH}_3\cdot\text{Me}_2\text{S}$ (2.5 ml,) fu aggiunta lentamente a 0 °C ad una soluzione di I (composto 1) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (2.8 g) in THF anidro (65 ml). La miscela fu agitata per 18 h a temp. ambiente; e successivamente furono aggiunti etanolo (3 ml), una soluzione 3M solution di NaOH (2 ml) e H_2O (150 ml). La miscela fu estratta con etere etilico, la fase organica separata ed evaporata ha dato dopo purificazione cromatografica il composto puro I (dove, $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (composto 40) (2 g) come olio incolore.

^1H NMR (CDCl_3) δ 7.30-7.23 (m, 5H), 5.62 (s, 1H), 4.78 (s, 1H), 4.60 (s, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.55 (pd, 2H), 2.84 (d, $J=13$ Hz, 1H), 2.76 (d, $J=10$ Hz, 1H), 2.50 (dd, $J_1=10$ Hz, $J_2=2$ Hz, 1H), 2.30 (d, $J=11$ Hz, 1H). $[\alpha]^{25}_D = 60$ (c 1.0, CHCl_3).

ESEMPIO 4

Preparazione di (1S,5S,7R)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-*eso*-carbossilato di metile I (composto 34) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$)



Ad una sospensione di I (dove, $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (R)$ -COOMe) (composto 40) (2 g) e Pd/C 10 % (1.3 g) in metanolo (40 ml), si aggiunge formiato d'ammonio (2.4 g). La miscela lasciata a riflusso per 1h, viene filtrata su Celite e lavata con CH_3OH . Dalla soluzione, per evaporazione si ottiene I (composto 34) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_6 = (R)$ -COOMe) (1.3 g), come olio incolore. 1H NMR ($CDCl_3$) δ 5.53 (s, 1H), 4.72 (s, 1H), 4.49 (s, 1H), 3.71 (s, 3H), 3.17 (dd, $J_1=13.6$ Hz, $J_2=1.8$ Hz, 1H), 2.83 (m, 2H), 2.68 (d, $J=13.6$ Hz, 1H), 2.55 (br, 1H). $[\alpha]^{25}_D = -55$ (c 0.7, $CHCl_3$).

ESEMPIO 5

Preparazione di acido (1S,5S,7R)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-eso-carbossilico I (composto 32) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_6 = (R)$ -COOH).

Il prodotto I (composto 34) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_6 = (R)$ -COOMe) preparato nell'esempio 4 (0.5 g) fu sciolto in una soluzione 4N di HCl (12 ml). Dopo 18 h a temp. ambiente la soluzione fu evaporata ottenendo, come sale di HCl, I (composto 32) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_6 = (R)$ -COOH). (0.5g)

$[\alpha]^{25}_D -38.3$ (c 1.1, H_2O); 1H NMR (D_2O) δ 5.95 (s, 1H), 5.06 (s, 1H), 5.04 (s, 1H), 3.58 (m, 2H), 3.34 (m, 2H);

ESEMPIO 6

Preparazione di Metil (1S,5S,7R)-3-ter-butossicarbonil-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-eso-carbossilato I (composto 42) (dove $X = H, H$, $R_1 = H$, $R_2 = Boc$, $R_6 = (R)$ -COOMe).

DIPEA (0.8 ml) e $(\text{BOC})_2\text{O}$ (1.1 g) furono aggiunti ad una soluzione di I (composto 34) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{H}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (0.8 g) in CH_2Cl_2 anidro (9 ml) ed etanolo (3 ml). La miscela di reazione fu fatta reagire per 18 h a temp. ambiente, il solvente fu evaporato ed il residuo trattato con una soluzione al 5 % di NaHSO_3 ed estratto con etere etilico. Evaporato il solvente il grezzo di reazione fu purificato per cromatografia per dare I (composto 42) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Boc}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (0.8 g) come solido bianco.

^1H NMR (CDCl_3) δ 5.64 and 5.58 (rotameri) (s, 1H), 4.65 and 4.60 (rotameri) (s, 1H), 4.51 (s, 1H), 3.72 (s, 3H), 4.00-3.60 (m, 2H), 3.20 (m, 1H), 2.92 (m, 1H), 1.43 (s, 9H).

ESEMPIO 7

Preparazione di (1S,5S,7R)-3-ter-butossicarbonil-6,8-diossa-7-esoidrossimetil-3-azabicyclo[3.2.1]ottano I (composto 62) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Boc}$, $R_6 = (R)\text{-CH}_2\text{OH}$).

Ad una soluzione di I (composto 42) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Boc}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (0.8 g) in MeOH (15 ml), a 0 °C viene aggiunto NaBH_4 (0.6 g) in piccole porzioni. Dopo 10 minuti a temp. ambiente la miscela viene evaporata e il prodotto purificato per cromatografia per dare puro I (composto 62) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Boc}$, $R_6 = (R)\text{-CH}_2\text{OH}$). (0.5g) olio incolore. $[\alpha]_D^{25} -30$ (c 1.0, MeOH);

^1H NMR (CDCl_3) δ 5.50 and 5.44 (rotameri) (s, 1H), 4.32 and 4.27 (rotameri) (s, 1H), 4.18 (m, 1H), 3.88-3.67 (m, 2H), 3.56 (d, $J=5.5$ Hz, 2H), 3.21 (m, 1H), 2.96 (m, 1H), 1.92 (b, 1H), 1.43 (s, 9H).

ESEMPIO 8

Preparazione di (1S,5S,7R)-3-(9-Fluorenilmetossicarbonil)-7-endo-idrossimetil-6,8-diossa-3-aza-biciclo[3.2.1]ottano I (dove X = H, H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Fmoc, R₆ = (R)-CH₂OH) (composto 61)

Ad una soluzione in THF di 2,3-O-isopropilidene-D-eritrosio (R,R) 5 (1,8 g), (preparato a partire da D-Arabinosio, secondo quanto riportato da Thompson, D.K.; Hubert, C.N.; Wightman, R.H. *Tetrahedron* 1993, 49, 3827-3840) e 2,2-dietossietilammmina 3a (dove W = W = OEt, R₁ = R₂ = R₃ = H) (1,7 ml) a 0 °C, NaBH(OAc)₃ (3.1 g) fu aggiunta a piccole porzioni. Dopo 18h a temp. ambiente, la miscela è diluita con una soluzione satura di NaHCO₃ ed estratta con acetato di etile. La fase organica evaporata ha dato un olio che fu purificato per cromatografia per dare il prodotto 8a (dove W = W = OEt, R₁=R₂=R₃=H) come olio giallino (1.9). $[\alpha]_D^{20}$ -8.4 (c 0.54, CHCl₃); ¹H NMR (CDCl₃) δ 4.83 (br, 2 H), 4.59 (t, J = 5.5 Hz, 1 H), 4.32 (m, 2 H), 3.75-3.45 (m, 6 H), 3.05-2.83 (m, 2 H), 2.79 (d, J = 5.5 Hz, 2 H), 1.44 (s, 3 H), 1.34 (s, 3 H), 1.21 (t, J = 7.0 Hz, 6 H).

Ad una soluzione di 8a (dove W = W = OEt, R₁=R₂=R₃=H) (1.7 g) in acetone (40 ml) furono aggiunte a 0° Fmoc-O-Su (2.1 g) e una soluzione acquosa di Na₂CO₃·H₂O (0.75 g in 40 ml). La miscela fu lasciata reagire a temp. ambiente per 18 h, ed estratta con CH₂Cl₂, il solvente fu evaporato ottenendo un olio che fu purificato per cromatografia per dare il composto 8a (dove W = W = OEt, R₁=R₂=H, R₃ =Fmoc) come olio giallino (2.2 g). $[\alpha]_D^{20}$ -34 (c 0.38, MeOH); ¹H NMR (CDCl₃) δ 7.73 (d, J = 7.3 Hz, 2 H), 7.56 (m, 2 H), 7.34 (m, 4 H), 4.63 (m, 2 H), 4.47-4.14 (m, 3 H), 4.19 (t, J = 4.9 Hz, 1 H), 3.74-3.02 (m, 10 H), 1.42-1.04 (m, 12 H);

Il composto **8a** (dove $W = OEt$, $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = Fmoc$) (1,9 g) sciolto in acido trifluoro acetico (8 ml) fu lasciato per 18 h a temp. ambiente. Dopo evaporazione del TFA il solido grezzo sciolto in MeOH fu filtrato su $NaHCO_3$ e dopo evaporazione del solvente il residuo fu purificato per cromatografia per dare, come solido bianco (1 g), il prodotto **I** (dove $X = H$, H , $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = Fmoc$, $R_6 = (S)-CH_2OH$) (composto 61). P.f. 41-42 °C; $[\alpha]^{20}_D -32$ (c 0.5, $CHCl_3$); 1H NMR ($CDCl_3$) δ 7.77 (d, $J = 7.0$ Hz, 2 H), 7.57 (d, $J = 7.0$ Hz, 2 H), 7.38 (m, 4 H), 5.51 (s, 1 H), 4.92-2.95 (m, 12 H).

ESEMPIO 9

FI 2000A000107

Preparazione di acido (1S,5S,7S)-3-(9-Fluorenilmetossicarbonil)-6,8-diossa-3-aza-biciclo[3.2.1]ottan-7-*endo* carbossilico **I** (dove $X = H$, H , $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = Fmoc$, $R_6 = (S)-COOH$) (composto 39)

Ad una soluzione di **I** (0,9 g) (composto 61) (dove $X = H$, H , $R_1 = H$, $R_2 = Fmoc$, $R_6 = (S)-CH_2OH$), preparato secondo l'esempio 8, in acetone (75 ml) fu aggiunto il reagente di Jones a 0°C, [preparato per lenta addizione di H_2SO_4 (2,8 ml) ad una soluzione di CrO_3 (1,5 g) in H_2O (20 ml) a 0°C]. La miscela fu lasciata reagire per 18 h a temp. ambiente, successivamente si aggiunse alcol isopropilico e la miscela filtrata su celite ed evaporata. Il prodotto grezzo sciolto in EtOAc (45 ml) lavato con 10% $NaHCO_3$ acquoso. La fase fu acidificata a pH 1 wcon HCl ed estratta con EtOAc. La fase organica, seccata, ed evaporata diede un residuo oleoso che fu purificato per cromatografia per dare come solido bianco (0.7 g) **I** (dove $X = H$, H , $R_1 = H$, $R_2 = H$, $R_3 = Fmoc$, $R_6 = (S)-COOH$) (composto 39). P.f. 79-82 °C; $[\alpha]^{20}_D -53$ (c 0.5, $CHCl_3$), 1H NMR



(CDCl₃) 7.75 δ (m, 2H); 7.53 (d, J = 7.0 Hz, 2H); 7.38 (m, 4H); 5.56 (s, 1H); 4.74-4.45 (m, 4H); 4.23-3.91 (m, 4H); 3.29-3.11 (m, 2H).

ESEMPIO 10

Preparazione di acido (1*R*,5*R*,7*R*)-3-(9-Fluorenilmetossicarbonil)-6,8-diossa-3-aza-biciclo[3.2.1]ottan-7-*endo* carbossilico I (dove X = H, H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Fmoc, R₆ = (*R*)-COOH) (composto 216).

Una soluzione di (1*R*,5*R*,7*S*)-3-(9-Fluorenilmetossicarbonil)-7-*endo*-idrossimetil-6,8-diossa-3-aza-biciclo[3.2.1]ottano, composto I (1,8 g) (dove X = H, H, R₁ = H, R₂ = Fmoc, R₆ = (*S*)-CH₂OH), preparato a partire dall' (*S,S*) eritrolattolo 5 (ottenuto a partire da L-arabinosio) con procedimento analogo a quanto descritto nell'esempio 8 per il suo enantiomero, fu trattata in modo analogo a quanto descritto nell'esempio 9, per il suo enantiomero per dare come solido bianco (1,4 g) I (dove X = H, H, R₁ = H, R₂ = H, R₃ = Fmoc, R₆ = (*R*)-COOH) (composto 216). P.f.

71-81 °C; $[\alpha]^{20}_D +52.9$ (c 0.50, CHCl₃).

H 2 2 9 0 A 0 0 0 1 0 7

ESEMPIO 11

Preparazione di 3-benzil-5-fenil-2-osso-(1*S*,5*S*,7*R*)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-*exo*-carbossilato di metile I (composto 27) dove (dove X = O, R₁ = Ph, R₂ = Bn, R₆ = (*R*)-COOMe)

Ad una soluzione di **3b** (2,4 g) (dove X = X = O, R₁ = Ph, R₂ = H, R₃ = Bn,) (preparato secondo la procedura riportata da R Simonoff and W.H Hartung, *J. Am. Pharm. Assoc.*, 35, 306, 1946) in CH₂Cl₂ anidro (20 ml) furono aggiunti il derivato dell'acido tartarico (*R,R*) **6** (2,49 g, 5,33 mmol) e DIPEA (5,4 ml). La miscela fu agitata a temp. ambiente per 2 h, il solvente fu evaporato per dare un olio che fu estratto in acetato di etile.

La soluzione fu lavata con soluzioni acquose di 5% KHSO_4 , 5% NaHCO_3 . Dopo evaporazione del solvente il residuo fu purificato per cromatografia. per dare **8b** (dove $X = X = \text{O}$, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{Bn}$,) (3.2 g) come olio incolore. $^1\text{H NMR}$ δ 7.90-7.85 (m, 2 H), 7.61-7.22 (m, 8 H), 5.39 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H), 5.11 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H), 4.88-4.10 (m, 4 H), 3.80 (s, 3 H), 1.49 (s, 3 H), 1.31 (s, 3 H).

Una soluzione di **8b** (3,2 g) (dove $X = X = \text{O}$, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{H}$, $R_3 = \text{Bn}$,) in toluene (80 ml) fu rapidamente aggiunta ad una sospensione di $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{SiO}_2$ (30% w/w, 1.4 g) in toluene a riflusso (120 ml) Dopo 15 min un terzo di solvente viene distillato via e la rimanente miscela calda filtrata su un piccolo strato di NaHCO_3 . Dopo evaporazione del solvente, il prodotto grezzo fu purificato per cromatografia ottenendo come solido incolore (2,4 g) **I** (dove $X = \text{O}$, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (composto 27). P.f. 113 -114 °C. $[\alpha]^{25}_D -64.0$ (c 1, CDCl_3). $^1\text{H NMR}$ δ 7.62-7.59 (m, 2 H), 7.41-7.24 (m, 8 H), 5.16 (s, 1 H), 4.92 (s, 1 H), 4.61 (m, 2 H), 3.74 (s, 3 H), 3.46 (m, 2 H).

ESEMPIO 12

Preparazione di 3-benzil-5-fenil-(1S,5S,7R)-6,8-diossa-3-azabicyclo[3.2.1]ottano-7-exo-carbossilato di metile **I** (composto 120) (dove $X = \text{H,H}$, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$)

Ad una soluzione di **I** (dove $X = \text{O}$, $R_1 = \text{Ph}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (composto 27) (2,5 mmol) in THF anidro (25 ml) a 0°C fu aggiunto goccia a goccia 10 M $\text{BH}_3\text{Me}_2\text{S}$ (0,5 ml, 4.9 mmol). La miscela fu lasciata sotto agitazione per 16h e successivamente furono aggiunti EtOH (1 ml), 3 M NaOH (1 ml) and H_2O (20 ml). La miscela fu estratta

H
7
0
0
-
A
C
C
O
1
0
7

con etere ed il residuo ottenuto per evaporazione della fase organica fu purificato per cromatografia. per dare come solido bianco (1. g) I (composto 120) (dove $X = H, H$, $R_1 = Ph$, $R_2 = Bn$, $R_6 = (R)-COOMe$). P.f. $97^\circ C$. $[\alpha]_D^{25} = 13.0$ (c 1, $CHCl_3$). 1H NMR δ 7.72-7.58 (m, 2 H), 7.52-7.19 (m, 8 H), 5.00 (s, 1 H), 4.86 (s, 1 H), 3.75 (m 2 H), 3.78 (s, 3 H), 3.62 (m, 2 H), 3.16 (d, $J = 11.2$, 4 H), 2.93 (d, $J = 11.6$, 2 H), 2.63 (d, $J = 11.0$, 2 H).

ESEMPIO 13

Preparazione di (1S,4S,7R)-3,4-Dibenzil-2-osso-6,8-diossa-3-azabicyclo[3,2,1]ottano-7-eso-carbossilato di metile I (composto 12) (dove $X = O$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_3 = Bn$, $R_6 = (R)-COOMe$)

Ad una soluzione di L-fenilalaninolo 3c (dove $W = H$, $W = OH$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_3 = H$) (5 g) in MeOH (150 ml) sono stati aggiunti 3.3 ml di benzaldeide. La miscela di reazione è stata lasciata sotto agitazione a temperatura ambiente per 1 h, poi a $0^\circ C$, sono stati aggiunti a piccole porzioni in 2 ore 1.2 g di $NaBH_4$. Il solvente è stato evaporato ed il residuo estratto con 50 ml di a pH=2. La soluzione acquosa è stata estratta con Et_2O , alcalinizzata a pH=9 con Na_2CO_3 ed estratta con $CHCl_3$. Le fasi organiche evaporate hanno dato N-benzil-(L)-fenilalaninolo come solido bianco (7 g) 3c (dove $W = H$, $W = OH$, $R_1 = H$, $R_2 = Bn$, $R_3 = Bn$)

1H NMR ($CDCl_3$) δ , ppm: 7.34-7.06 (m, 10 H), 3.73 (s, 2 H), 3.31 (dd, $J = 6.2$, 12.5 Hz, 1 H), 3.00-2.81 (m, 1H), 2.80-2.66 (m, 2 H). 2.62 (dd, $J = 6.2$, 12.5 Hz, 1 H),

Ad una soluzione di N-benzil-(L)-fenilalaninolo 3c (2.8 g) in 23 ml di $CHCl_3$ a $0^\circ C$ furono aggiunti 4 ml di DIPEA, 2.1 di HOBt e una soluzione

FI 2008A000107

in 23 ml di CHCl_3 di 2,4 g di estere metilico dell'acido-(2*R*, 3*R*)-2,3-O-isopropilidentartarico (**6**). Sono stati aggiunti infine 1,7 g di DIPC. La miscela di reazione è stata lasciata a temperatura ambiente sotto agitazione 72 ore: Dopo evaporazione del solvente il grezzo è purificato per cromatografia ottenendo come solido giallo (2,4 g) **9c** (dove $W=H$, $W=OH$, $R_1=H$, $R_2=Bn$, $R_3=Bn$)

$[\alpha]_D^{25} - 72$ ($c=0,5$, CHCl_3). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3), δ , ppm: (miscela di rotameri 2:1) rotamero maggiore δ 7,40-7,05 (m, 10 H), 5,28 (d, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 4,81 (d, $J = 6,0$ Hz, 1 H), 4,75 (d, $J = 16,4$ Hz, 1 H), 4,0 (d, $J = 16,4$ Hz, 1 H), 3,79 (s, 3 H), 3,70 (m, 1 H), 3,60 (m, 1 H), 3,46 (m, 1 H), 3,04 (m, 1 H), 1,52 (s, 3 H), 1,49 (s, 3 H).

Il composto **9c** (dove $W=H$, $W=OH$, $R_1=H$, $R_2=Bn$, $R_3=Bn$) è stato ossidato a **10** (dove $W=O$, $W=O$, $R_1=H$, $R_2=Bn$, $R_3=Bn$) mediante ossidazione di Swern. 4.5 g di alcool (**9c**) in 20 ml di CH_2Cl_2 sono stati ossidati in condizioni usuali in presenza di ossalil cloruro e DMSO DIPEA. Dalla miscela di reazione dopo trattamento usuale si sono ottenuti così 5 g di un solido giallo (**10**) (prodotto grezzo).

$^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ , ppm: 9,44 (s, 1 H), 7,40-7,00 (m, 10 H), 5,33 (d, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 4,92 (d, $J = 6,2$ Hz, 1 H), 4,89 (d, $J = 18,7$ Hz, 1 H), 3,79 (s, 3 H), 3,53 (dd, $J = 9,8, 4,3$ Hz, 1 H), 3,44 (d, $J = 18,7$ Hz, 1 H), 3,41 (dd, $J = 13,9, 4,3$ Hz, 1 H), 3,12 (dd, $J = 13,9, 9,8$ Hz, 1 H), 1,54 (s, 3 H), 1,45 (s, 3 H).

Il prodotto ottenuto viene aggiunto in soluzione di toluene (15 ml), ad una sospensione di 2.5 g di silice acida in 30 ml di toluene a riflusso; la reazione viene mantenuta per 30 min a riflusso, quindi è stato distillato

via circa 1/3 del solvente e è stato filtrato a caldo il resto della miscela di reazione su uno strato di NaHCO_3 . Dopo evaporazione del solvente si sono ottenuti così 3.2 g di un solido vetroso che viene purificato per cromatografia ottenendo I (composto 12) (dove $X = \text{O}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_3 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$)

^1H NMR (CDCl_3) δ , ppm: 7,40-7,15 (m, 8 H), 7,03 (m, 2 H), 5,51 (s, 1 H), 5,33 (d, $J = 15,0$ Hz, 1 H), 4,97 (s, 1 H), 4,71 (s, 1 H), 4,03 (d, $J = 15,0$ Hz, 1 H), 3,75 (s, 3 H), 3,32 (dd, $J = 10,7, 3,7$ Hz, 3 H), 3,15 (dd, $J = 13,5, 3,7$ Hz, 1 H), 2,75 (dd, $J = 13,5, 10,7$ Hz, 1 H)

ESEMPIO 14

Preparazione di (1*S*,4*S*,7*R*)-3,4-Dibenzil-6,8-diossa-7-eso-idrossimetil 3-azabicyclo[3,2,1]ottano I (composto 184) (dove $X = \text{H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_3 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-CH}_2\text{OH}$)

Ad una soluzione di I (composto 12) (dove $X = \text{O}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_3 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-COOMe}$) (4g) in 100 ml di THF anidro vengono addizionati 3 ml di soluzione 10 M in THF di BH_3SMe_2 . La miscela di reazione è stata lasciata a temperatura ambiente per 38 ore. Dopo trattamento con 6 ml di EtOH assoluto e 6 ml di soluzione acquosa al 10% di NaOH, a miscela così ottenuta è stata diluita con 50 ml di acqua ed estratta con Et_2O . La fase organica è stata evaporata ed il residuo purificato per cromatografia su colonna. Si sono ottenuti come solido giallo 1.7 g di I (composto 184) (dove $X = \text{H}$, $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{Bn}$, $R_3 = \text{Bn}$, $R_6 = (R)\text{-CH}_2\text{OH}$)

$[\alpha]_D^{25} -59$ ($c = 0,2$, CHCl_3)

^1H NMR (CDCl_3) δ , ppm: 7,40-7,00 (m, 10 H), 5,11 (s, 1 H), 4,39 (t, $J = 5,1$ Hz, 1 H), 4,24 (s, 1 H), 3,81 (d, $J = 13,6$ Hz, 1 H), 3,63 (d, $J = 13,6$



Hz, 1 H) 3,52 (m, 2 H), 3,00 (m, 1 H) 3,00-2,80 (m, 2 H), 2,94 (d, J = 11,6 Hz, 1 H), 2,45 (dd, J = 11,6, 1,8 Hz, 1 H)

ESEMPIO 15

Preparazione del dimero II (composto 346) (dove X = H, R₁ = H, R₂ = Bn, R₃ = Bn, X' = H, R₁' = H, R₂' = Bn, R₆ = (R)-COOMe)

Sono stati aggiunti in 0,1 ml di DIPEA ad una soluzione di 0,1 g di I (dove X = H, R₁ = H, R₂ = (S)-Bn, R₃ = Bn, R₆ = (R)-COOH) in 0,3 ml di CH₂Cl₂. A questa soluzione sono stati aggiunti 0,2 g di PyBroP a 0 °C e 0,05 g (0,209 mmol) I (dove X = H, R₁ = H, R₂ = (S)-Bn, R₃ = H, R₆ = (R)-COOMe). La reazione viene mantenuta in agitazione, a temperatura ambiente per una notte, il solvente evaporato a pressione ridotta e l'olio ottenuto è stato sciolto in 50 ml di AcOEt. la soluzione filtrata è stata evaporata e purificata cromatografia per dare come solido bianco (0.07 g,) II (composto 346) (dove X = H, R₁ = H, R₂ = Bn, R₃ = Bn, X' = H, R₁' = H, R₂' = Bn, R₆ = (R)-COOMe).

ATTIVITA' BIOLOGICA

L'attività dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani e dei loro dimeri secondo l'invenzione è stata valutata in numerosi test biologici: test di sopravvivenza di cellule PC12 in assenza di siero, test di proliferazione di cellule PC3, induzione di VGF, test di spiazzamento del legame di NGF iodinato, e test di autofosforilazione del recettore ad alta affinità per NGF (Trk-A), utilizzando NGF umano ricombinante come standard interno.

Effetto dei composti sulla sopravvivenza di cellule PC12 in assenza di siero

L'attività dei composti di formula generale (I) e (II), aventi i sostituenti riportati sopra nelle Tabelle 1-3, è stata determinata come capacità di indurre la sopravvivenza di cellule PC12 in assenza di siero, utilizzando NGF umano ricombinante come standard interno.

Le cellule PC12 sono state staccate da piastre di coltura con PBS-EDTA (soluzione salina a pH fisiologico addizionata con acido etilendiamminotetraacetico) e lavate una volta con PBS per eliminare eventuali residui di siero. Esse sono state quindi risospese in RPMI 1640 senza rosso fenolo addizionato con penicillina e streptomycin e coltivate alla concentrazione di 5×10^4 in piastre da coltura a 96 pozzetti a fondo piatto in un volume finale di 100 μ l per pozzetto. La curva standard è stata eseguita aggiungendo alle colture (in triplicato) NGF umano ricombinante nell'intervallo di concentrazioni compreso tra 1 e 25 ng/ml. I composti in esame sono stati aggiunti in triplicato alla concentrazione finale di 1, 10, 100 μ M. Le colture sono state incubate a 37°C in aria umida al 5% CO₂ per 60 ore. Quindi ad ogni pozzetto sono stati aggiunti 10 μ l di una soluzione 0,5 mg/ml di MTT (bromuro di 3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolio) e le piastre sono state lasciate a 37°C per 4 ore al riparo della luce. Al termine di questo periodo di incubazione sono stati aggiunti a ciascun pozzetto 100 μ l di una soluzione 50% dimetilformammide + 20% SDS, pH 7.4. La reazione colorimetrica è stata quindi evidenziata mediante lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 570 nm.

Nella Figura 1 sono riportati i risultati ottenuti con una concentrazione 10 μ M dei composti maggiormente rappresentativi tra quelli descritti nelle Tabelle. I risultati sono espressi come percentuale di sopravvivenza delle cellule PC12 indotta dai composti (10 μ M) o da NGF umano ricombinante (1 nM) rispetto al controllo.

Effetto dei composti sulla proliferazione di cellule PC3 in assenza di siero

L'attività dei composti di formula generale (I) e (II) aventi i sostituenti riportati nelle Tabelle 1-3 è stata determinata come capacità di indurre la proliferazione di cellule PC3 in assenza di siero, utilizzando NGF umano ricombinante come standard interno.

Le cellule della linea PC3 sono state coltivate alla concentrazione di 10^4 cell/ml in piastre da 24 pozzetti in un volume finale di 500 μ l. I composti (alla concentrazione finale di 1, 10, 100 μ M) sono stati aggiunti alle colture in triplicato. La curva standard è stata eseguita aggiungendo NGF umano ricombinante (da 1 a 25 ng/ml). Dopo 60 ore di coltura a 37°C in aria umida al 5% CO₂, 0,5 μ Ci di ³H-timidina sono stati aggiunti a ciascun pozzetto. Dopo otto ore le cellule sono state lavate 6 volte con PBS, lisate con 0,1 % Triton-X100 in 0,1 M tampone fosfato. L'incorporazione di timidina triziata è stata determinata mediante solubilizzazione di 100 μ l di lisato cellulare in cocktail di scintillazione e lettura in beta-counter.

La Figura 2 mostra i risultati ottenuti con una concentrazione 10 μ M di composti selezionati o con 4 nM NGF umano ricombinante come controllo positivo. I dati sono espressi come rapporto tra incorporazione

di ^3H -timidina delle colture stimulate con i composti o con NGF (media \pm SD) e incorporazione di ^3H -timidina delle colture non stimulate (media \pm SD).

FI 9101A 780107

Produzione di VGF da parte di cellule PC12 incubate con composti selezionati

L'attività di composti di formula generale (I) e (II) aventi i sostituenti riportati nella precedenti Tabelle è stata determinata come capacità di indurre la produzione di VGF da parte di cellule PC12, utilizzando NGF umano ricombinante come standard interno. 5×10^6 cellule PC12 sono state coltivate in presenza di 1, 10, 100 μM dei composti o di 4 nM NGF umano ricombinante come standard interno, per 24 ore. Le cellule sono state quindi lisate in 0,25 % NP-40 in PBS addizionato con 1 mM PMSF (fenil-metilsolfonil fluoruro) e 1 mM leupeptina. La concentrazione delle proteine nei lisati cellulari è stata determinata con il metodo di Bradford. 30 μg di proteine totali sono stati caricati in gel di poliacrilamide (8%), separati mediante elettroforesi, trasferiti su membrana di nitrocellulosa e colorati con anticorpi monoclonali anti-VGFe anticorpi rivelatori anti- IgG di topo marcati con perossidasi. La reazione di colorazione è stata evidenziata con reagenti chemiluminescenti (ECL-Amersham)

La Figura 3 mostra i risultati ottenuti con i composti 91, 9, 323, 270 alla concentrazione di 10 μM . I composti testati e il NGF sono in grado di indurre produzione di VGF da parte delle cellule PC12.

Curva di spiazzamento del legame di ^{125}I -NGF a cellule PC12

L'attività di composti selezionati di spiazzare il legame del NGF ai recettori di membrana di cellule PC12 è stata valutata mediante la



metodica classica di "binding" con ligando radiomarcato, utilizzando concentrazioni costanti di NGF iodinato e concentrazioni scalari dei composti in esame.

Le cellule PC12, staccate dalla piastra di coltura con PBS-EDTA, lavate in HKR medium (10 mM Hepes, pH 7,35 contenente 125 mM NaCl, 4,8 mM KCl, 1,3 mM CaCl₂, 1,2 mM MgSO₄, 1,2 mM KH₂PO₄, 1 g/l glucosio e 1 g/l BSA (albumina di siero bovino) sono state incubate in triplicato, alla concentrazione di 2×10^6 /ml in HKR medium con 0,1 nM ¹²⁵I-NGF in presenza o in assenza di concentrazioni scalari del campione in esame.

La Figura 4a mostra la curva di spiazzamento del legame di ¹²⁵I-NGF ottenuta con il composto 9, mentre la Figura 4b mostra la medesima curva ottenuta con NGF umano ricombinante. L'analisi dei dati della radioattività legata alle cellule con opportuni programmi (Graphit 4) ha rivelato una K_d di 114 pM ± 0.01 per il NGF umano come riportato in letteratura. Il composto 9 si lega invece ai recettori di NGF con una K_d di 165 nM ± 0.05.

Attività di autofosforilazione di Trk-A

Per verificare la capacità dei composti di formula (I) e (II), riportati nelle precedenti Tabelle 1-3, di indurre autofosforilazione di Trk-A, cellule PC12 sono state coltivate per 48 ore in un medium al 5% FBS, lavate ed equilibrate in terreno senza siero per 2 ore.

2.5×10^6 cellule sono state quindi stimulate per 30' con i composti selezionati (alla concentrazione finale di 10 µM) o con NGF ricombinante (100 ng/ml) come controllo positivo.

Le cellule sono state lisate in 0,5% Triton-X in PBS addizionato con inibitori di proteasi (PMSF, aprotinina, pepstatina e leupeptina) e di fosfatasi (cocktail Sigma). Dopo aver determinato, mediante il metodo di Bradford, la concentrazione proteica dei lisati cellulari, 50 µg di proteine totali per ogni coltura sono stati caricati su gel, separati mediante elettroforesi, trasferiti su membrana di nitrocellulosa e colorati con anticorpi di coniglio anti-Trk-A fosforilato in Tyr 490 e anti-Trk-A fosforilato in Tyr674/675 entrambi della Cell Signaling Technology), usati rispettivamente a 1:1000 ed 1:750, diluizione finale. Dopo incubazione con anticorpi secondari anti Ig di coniglio marcati con perossidasi, la reazione di colorazione è stata evidenziata con kit ECL secondo i metodi stabiliti dalla casa produttrice (Amersham).

La Figura 5 mostra i risultati ottenuti con i campioni 270, 323, 9, 91 e con NGF come standard interno. I composti testati sono in grado di indurre autofosforilazione di Trk-A nelle cellule PC12 e di innescare pertanto la trasmissione di un segnale biologico.

Attività sinergica dei composti

L'effetto sinergico di combinazioni multiple dei presenti composti di formula (I) e (II) è stato valutato nel test di sopravvivenza di cellule PC12 in assenza di siero, utilizzando NGF umano ricombinante come standard interno.

Le cellule PC12 sono state coltivate in triplicato in piastre da 96 pozzetti a fondo piatto, alla concentrazione di 5×10^3 cellule/per pozzetto, in un volume finale di 100 µl in presenza di 5 µM di composti selezionati o di combinazioni multiple di composti alla concentrazione finale di 10 µM.

Come controllo positivo è stato utilizzato NGF umano ricombinante (0,5 nM). Le colture sono state incubate a 37°C in aria umida al 5% CO₂ per 60 ore. Al termine di questo periodo di incubazione 10 µl di una soluzione 0,5 mg/ml di MTT sono stati aggiunti ad ogni pozzetto. Le piastre sono state quindi incubate a 37°C al riparo dalla luce per 4 ore. La reazione di colorazione è stata rilevata dopo aggiunta a ciascun pozzetto di 100 µl di una soluzione 50% dimetilformammide + 20% SDS, pH 7,4 e lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 570 nm.

La figura 6 mostra come alcune combinazioni di composti (91 + 323) inducano una attività biologica (espressa come percentuale di sopravvivenza rispetto al controllo) superiore alla somma delle attività indotte dai campioni singoli.

Attività antagonista di NGF

Per valutare l'attività antagonista di NGF dei presenti composti di formula generale (I) e (II), sono stati eseguiti test di sopravvivenza cellulare di cellule PC12 coltivate in assenza di siero in presenza di dosi subliminali di NGF (0,5 nM) e concentrazioni scalari di composti selezionati.

Le cellule PC12, staccate dalle piastre con PBS-EDTA e lavate con PBS per eliminare eventuali residui di siero, sono state risospese in RPMI privo di rosso fenolo e di siero, addizionato con penicillina e streptomycin, e coltivate in triplicato in piastre da 96 pozzetti a fondo piatto, alla concentrazione di 5×10^3 cellule/per pozzetto, in un volume finale di 100 µl in presenza di 0,5 nM NGF o di 0,5 nM NGF + 10 µM di

campioni selezionati. Le colture sono state incubate a 37°C in aria umida al 5% CO₂ per 60 ore. Al termine di questo periodo di incubazione 10 µl di una soluzione 0,5 mg/ml di MTT sono stati aggiunti ad ogni pozzetto. Le piastre sono state quindi incubate a 37°C al riparo dalla luce per 4 ore. La reazione di colorazione è stata rilevata dopo aggiunta a ciascun pozzetto di 100 µl di una soluzione 50% dimetilformamide + 20% SDS, pH 7,4 e lettura allo spettrofotometro ad una lunghezza d'onda di 570 nm.

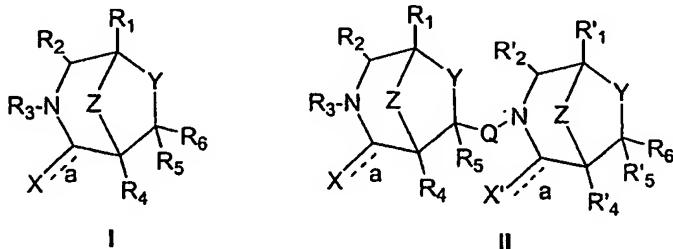
La Figura 7 mostra i risultati ottenuti con i composti 27 e 120: una concentrazione 10 µM di questi composti è in grado di inibire l'attività di sopravvivenza indotta da 0,5 nM NGF del 65% e 82% rispettivamente.

H 2 0 0 2 A 0 0 0 1 0 7



RIVENDICAZIONI

1. Composizioni farmaceutiche caratterizzate dal fatto di comprendere come principio attivo almeno uno tra i derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottano di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II)



dove:

FILE NO. A 000107

R₁ e R'₁, uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C₁₋₈alchile, C₂₋₈alchenile, C₂₋₈alchinile, cicloalchile, arile, eterociclo, arilC₁₋₈alchile; eterocicloC₁₋₈alchile; RR'N-C₁₋₈alchile, RR'N-arile, FmocNR'-arile, BocNR'-arile, CBzNR'-arile, RO-arile, R(O)C-arile, RO(O)C-arile, RR'N(O)C-arile; FmocNR'-C₁₋₈alchile, BocNR'-C₁₋₈alchile, CbzNR'-C₁₋₈alchile, FmocNR'-C₁₋₈arile, BocNR'-C₁₋₈arile e CbzNR'-C₁₋₈arile,

R₂ e R'₂, uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C₁₋₈alchile, C₂₋₈alchenile, C₂₋₈alchinile, cicloalchile, arile, arilC₁₋₈alchile, eterocicloC₁₋₈alchile, aminoC₁₋₈alchile, amminoarile, C₁₋₈alchilossiarile, idrossiarile, carbossiarile, carboalchilossiarile, alchilcarbamoilarile e -(catene laterali di amminoacidi), oppure

R₁ e R₂, presi insieme ed R₁' e R₂' presi insieme, formano un gruppo C₁-
4alchile, C₂-4alchenil, cicloalchile o cicloalchile benzofuso, per formare un
ponte di 3, 4, 5 o 6 termini,

R_3 è scelto nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, aril C_{1-8} alchile, eterociclo C_{1-8} alchile, $RR'NC_{1-8}$ alchile, $RR'N$ arile, $RO-C_{1-8}$ alchile, $RO(O)C-C_{1-8}$ alchile, $R(O)C-C_{1-8}$ alchile, $RC(O)O-C_{1-8}$ alchile, $RC(O)N(R)C_{1-8}$ alchile, RO -arile, $RO(O)C$ -arile, $R(O)C$ -aril $RC(O)O$ -arile, $RC(O)N(R)$ arile, $-CH$ (catene laterali di amminoacidi) CO_2R , $-CH$ (catene laterali di amminoacidi) $C(O)NR$, $-CH(CO_2R)$ -catene laterali di amminoacidi, $CH(CONRR')$ -catene laterali di amminoacidi, Fmoc, Boc e Cbz,

R_4 , R'_4 , R_5 , e R'_5 , uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenile, C_{2-8} alchinile, cicloalchile, arile, eterociclo, aril C_{1-8} alchil e eterociclo C_{1-8} alchile,

R_6 è scelto nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenil, C_{2-8} alchinil, cicloalchile, arile, aril C_{1-8} alchile, eterociclo, eterociclo C_{1-8} alchil; $-C(O)R$, $-C(O)OR$, $-C(O)NRR'$, CH_2OR , CH_2NRR' , $-C(O)NH-CH$ (catene laterali di amminoacidi) $C(O)OR$, CH_2NR -Fmoc, CH_2NR -Boc e CH_2NR -CBz,

R e R' , uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di H, C_{1-8} alchile, C_{2-8} alchenil, C_{2-8} alchinil, cicloalchile, arile, eterociclo, aril C_{1-8} alchil; eterociclo C_{1-8} alchil; gruppo di protezione, $-C(O)CH$ (catene laterali di amminoacidi)-NHT, $-NH-CH$ (catene laterali di amminoacidi)COOT e $-CH$ (catene laterali di amminoacidi)COOT,

dove T è scelto tra H e C_{1-8} alchile;

X ed X', uguali o diversi tra loro, sono scelti tra O e S, quando a è doppio legame, oppure

X ed X' sono entrambi H, se a è legame singolo,

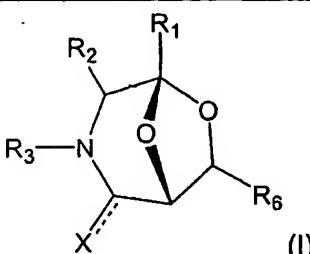


Y e Z, uguali o differenti tra loro, sono scelti nel gruppo consistente di O, S, SO, SO₂ e N-R, dove R è definito come sopra,

Q è scelto nel gruppo consistente di C=O, CH₂ e CO-NH-CH(catene laterali di amminoacidi)-CO,

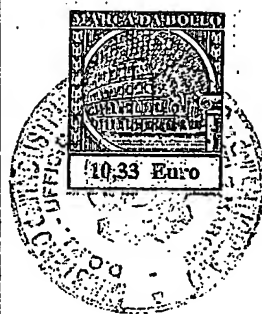
e dove i gruppi alchile, alchenile, alchinile, cicloalchile, arile e i gruppi eterociclici sopra riportati, possono essere eventualmente sostituiti.

2. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, caratterizzate dal fatto che nei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula (I) e nei loro dimeri di formula (II) Z è O.

3. Le composizioni farmaceutiche secondo la rivendicazione 1, caratterizzate dal fatto che i derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula (I) e i loro dimeri di formula (II) sono scelti tra i composti aventi le seguenti formule:

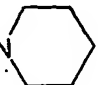


 (I)					
Composto	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₆
1	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
2	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
3	O	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 
4	O	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 

5	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
6	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
7	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
8	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
9	O	H	(R) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
10	O	H	(R) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
11	O	H	(S) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
12	O	H	(S) -CH ₂ Ph	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
13	O	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
14	O	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
15	O	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
16	O	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
17	O	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
18	O	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
19	O	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
20	O	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
21	O	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
22	O	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
23	O	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
24	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
25	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH(CH ₂) ₂ NH ₂
26	S	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH(CH ₂) ₂ OH
27	O	Ph	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
28	O	Ph	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
29	O	Ph	H	CH(Ph) ₂	(R) -CO ₂ Me



30	O	Ph	H	CH(Ph) ₂	(S) -CO ₂ Me
31	O	NO ₂ -Ph	H	Ph	(S)-CO ₂ Me
32	H	H	H	H	(R) -CO ₂ H
33	H	H	H	H	(S) -CO ₂ H
34	H	H	H	H	(R) -CO ₂ Me
35	H	H	H	H	(S) -CO ₂ Me
36	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ H
37	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ H
38	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ H
39	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ H
40	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
41	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
42	H	H	H	Boc	(R) -CO ₂ Me
43	H	H	H	Boc	(S) -CO ₂ Me
44	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
45	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
46	H	H	H	H	(R) -CONHMe
47	H	H	H	H	(S) -CONHMe
48	H	H	H	Ac	(R) -CONHMe
49	H	H	H	Ac	(S) -CONHMe
50	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CONHMe
51	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CONHMe
52	H	H	H	Fmoc	(R) -CONHMe
53	H	H	H	Fmoc	(S) -CONHMe

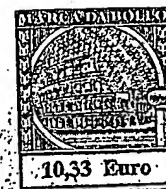
H 2000 A 000107

54	H	H	H	PhCH ₂	(R)-CON 
55	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CONH 
56	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CON 
57	H	H	H	PhCH ₂	(R)-CONH(CH ₂) ₂ OH
58	H	H	H	H	(R) -CH ₂ OH
59	H	H	H	H	(S) -CH ₂ OH
60	H	H	H	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
61	H	H	H	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
62	H	H	H	Boc	(R) -CH ₂ OH
63	H	H	H	Boc	(S) -CH ₂ OH
64	H	H	H	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
65	H	H	H	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
66	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
67	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
68	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
69	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
70	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
71	H	H	(S) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
72	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
73	H	H	(R) -CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
75	H	H	(S) -COOH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
76	H	H	(S) -COOH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me

77	H	H	(R) -COOH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
78	H	H	(R) -COOH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
79	H	H	(S) -CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
80	H	H	(S) -CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
81	H	H	(R) -CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
82	H	H	(R) -CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
83	H	H	(S) -CH ₂ OBn	H	(R) -CO ₂ Me
84	H	H	(S) -CH ₂ OBn	H	(S) -CO ₂ Me
85	H	H	(R) -CH ₂ OBn	H	(R) -CO ₂ Me
86	H	H	(R) -CH ₂ OBn	H	(S) -CO ₂ Me
87	H	H	(S) -CH ₂ OH	H	(R) -CO ₂ Me
88	H	H	(S) -CH ₂ OH	H	(S) -CO ₂ Me
89	H	H	(R) -CH ₂ OH	H	(R) -CO ₂ Me
90	H	H	(R) -CH ₂ OH	H	(S) -CO ₂ Me
91	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
92	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
93	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
94	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
95	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
96	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
97	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
98	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
99	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
100	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
101	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me

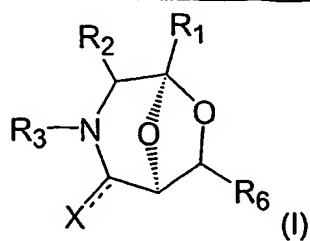
FI 2002A000107

102	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
103	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
104	H	H	(S) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
105	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
106	H	H	(R) -CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
107	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
108	H	H	(S) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
109	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
110	H	H	(R) -CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
111	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
112	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
113	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
114	H	H	=CH ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
115	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
116	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
117	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R) -CH ₂ OH
118	H	Ph	H	H	(R) -CO ₂ Me
119	H	Ph	H	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
120	H	Ph	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
121	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(R) -CO ₂ Me
122	H	Ph	H	H	(S) -CO ₂ Me
123	H	Ph	H	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
124	H	Ph	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
125	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(S) -CO ₂ Me
126	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOMe

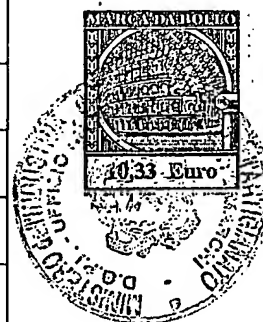


127	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOH
128	H	p-NH ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONHCH ₂ CO ₂ Me
129	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)- NH ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CO ₂ Me
130	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)N H ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CO ₂ H
131	H	p-NH- (Asp(O ^t Bu)- NH ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONH- Lys(NHBoc)-OMe
132	H	p-NH- (Asp(OH)- NH ₂)-C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONH-Lys-OMe
133	H	p-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOH
134	H	p-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-COOMe
135	H	p-NO ₂ -C ₆ H ₄	H	Ph	(S)-CONHCH ₂ CO ₂ Me
136	H	Ph	H	H	(R) -CH ₂ OH
137	H	Ph	H	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
138	H	Ph	H	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
139	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(R) -CH ₂ OH
140	H	Ph	H	H	(S) -CH ₂ OH
141	H	Ph	H	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
142	H	Ph	H	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
143	H	Ph	H	CH(Ph) ₂	(S) -CH ₂ OH

144	H	H	(S) -Me	Fmoc	(R) -CO ₂ H
145	H	H	(S) -Me	Fmoc	(S) -CO ₂ H
146	H	H	(R) -Me	Fmoc	(R) -CO ₂ H
147	H	H	(R) -Me	Fmoc	(S) -CO ₂ H
148	H	H	(S) -Me	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
149	H	H	(S) -Me	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
150	H	H	(R) -Me	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
151	H	H	(R) -Me	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
152	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
153	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
154	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
155	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
156	H	H	(S) -Me	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
157	H	H	(S) -Me	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
158	H	H	(R) -Me	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
159	H	H	(R) -Me	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
160	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
161	H	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
162	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
163	H	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
164	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
165	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
166	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
167	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
168	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me



Composto	X	R ₁	R ₂	R ₃	R ₆
188	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
189	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
190	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
191	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
192	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
193	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
194	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
195	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
196	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
197	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
198	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
199	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
200	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
201	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
202	O	H	H	PhCH ₂	(R) -CONHMe
203	O	H	H	PhCH ₂	(S) -CONHMe
204	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(R) -CONHMe
205	O	H	(S) -Me	PhCH ₂	(S) -CONHMe
206	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(R) -CONHMe



207	O	H	(R) -Me	PhCH ₂	(S) -CONHMe
208	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CONHMe
209	O	H	(S) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CONHMe
210	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CONHMe
211	O	H	(R) -PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CONHMe
212	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CONHMe
213	O	H	(S) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CONHMe
214	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(R) -CONHMe
215	O	H	(R) -CH ₂ CH(Me) ₂	PhCH ₂	(S) -CONHMe
216	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ H
217	H	H	H	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
218	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ H
219	H	H	H	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
220	H	H	(S)-Me	Fmoc	(R) -CO ₂ H
221	H	H	(S)-Me	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
222	H	H	(S)-Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
223	H	H	(R)-Me	Fmoc	(R) -CO ₂ H
224	H	H	(R)-Me	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
225	H	H	(R)-Me	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
226	H	H	(S)-Me	Fmoc	(S) -CO ₂ H
227	H	H	(S)-Me	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
228	H	H	(S)-Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
229	H	H	(R)-Me	Fmoc	(S) -CO ₂ H
230	H	H	(R)-Me	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
231	H	H	(R)-Me	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me

232	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
233	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
234	H	H	(S)- PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
235	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ H
236	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
237	H	H	(R)- PhCH ₂	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
238	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
239	H	H	(S)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
240	H	H	(S)- PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
241	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ H
242	H	H	(R)- PhCH ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
243	H	H	(R)- PhCH ₂	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
244	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
245	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
246	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
247	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
248	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
249	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
250	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
251	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
252	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
253	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
254	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
255	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CO ₂ Me
256	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CO ₂ Me

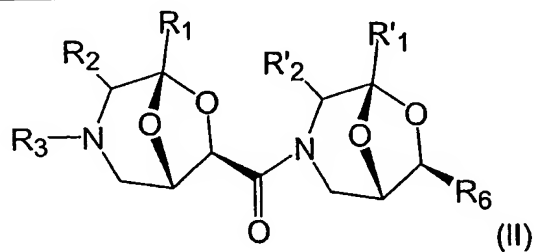
257	H	H	(S)-CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
258	H	H	(S)-CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
259	H	H	(S)-CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CO ₂ Me
260	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CO ₂ Me
261	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CO ₂ Me
262	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CO ₂ Me
263	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CO ₂ Me
264	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
265	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CO ₂ Me
266	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
267	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CO ₂ Me
268	H	H	(S)-Me	H	(R) -CH ₂ OH
269	H	H	(S)-Me	Bn	(R) -CH ₂ OH
270	H	H	(S)-Me	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
271	H	H	(R)-Me	H	(R) -CH ₂ OH
272	H	H	(R)-Me	Bn	(R) -CH ₂ OH
273	H	H	(R)-Me	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
274	H	H	(S)-Me	H	(S) -CH ₂ OH
275	H	H	(S)-Me	Bn	(S) -CH ₂ OH
276	H	H	(S)-Me	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
277	H	H	(R)-Me	H	(S) -CH ₂ OH
278	H	H	(R)-Me	Bn	(S) -CH ₂ OH
279	H	H	(R)-Me	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
280	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R) -CH ₂ OH
281	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH

282	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
283	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(R) -CH ₂ OH
284	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
285	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
286	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(S) -CH ₂ OH
287	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
288	H	H	(S)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
289	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	H	(S) -CH ₂ OH
290	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
291	H	H	(R)-CH ₂ CH(Me) ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
292	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(R) -CH ₂ OH
293	H	H	(S) -PhCH ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
294	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
295	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(R) -CH ₂ OH
296	H	H	(R) -PhCH ₂	Bn	(R) -CH ₂ OH
297	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
298	H	H	(S) -PhCH ₂	H	(S) -CH ₂ OH
299	H	H	(S) -PhCH ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
300	H	H	(S) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
301	H	H	(R) -PhCH ₂	H	(S) -CH ₂ OH
302	H	H	(R) -PhCH ₂	Bn	(S) -CH ₂ OH
303	H	H	(R) -PhCH ₂	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
304	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
305	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
306	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CH ₂ OH

H



307	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
308	H	H	(R)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
309	H	H	(R)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
310	H	H	(R)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
311	H	H	(R)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
312	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
313	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
314	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(S) -CH ₂ OH
315	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(S) -CH ₂ OH
316	H	H	(S)- CH ₂ OH	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
317	H	H	(S)- CH ₂ OH	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH
318	H	H	(S)- CH ₂ OBn	Fmoc	(R) -CH ₂ OH
319	H	H	(S)- CH ₂ OBn	PhCH ₂	(R) -CH ₂ OH



Composto	R ₁	R ₂	R ₃	R' ₁	R' ₂	R ₆
320	H	H	H	H	H	CO ₂ Me
321	H	H	H	H	H	CONHMe
322	H	H	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me
323	H	H	PhCH ₂	H	H	CONHMe
324	H	H	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
325	H	H	Fmoc	H	H	CONHMe

326	H	H	Boc	H	H	CO ₂ Me
327	H	H	Boc	H	H	CONHMe
328	H	PhCH ₂	H	H	H	CO ₂ Me
329	H	PhCH ₂	H	H	H	CONHMe
330	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me
331	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	H	CONHMe
332	H	PhCH ₂	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
333	H	PhCH ₂	Fmoc	H	H	CONHMe
334	H	PhCH ₂	Boc	H	H	CO ₂ Me
335	H	PhCH ₂	Boc	H	H	CONHMe
336	H	H	H	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
337	H	H	H	H	PhCH ₂	CONHMe
338	H	H	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
339	H	H	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CONHMe
340	H	H	Fmoc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
341	H	H	Fmoc	H	PhCH ₂	CONHMe
342	H	H	Boc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
343	H	H	Boc	H	PhCH ₂	CONHMe
344	H	PhCH ₂	H	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
345	H	PhCH ₂	H	H	PhCH ₂	CONHMe
346	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
347	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	PhCH ₂	CONHMe
348	H	PhCH ₂	Fmoc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me
349	H	PhCH ₂	Fmoc	H	PhCH ₂	CONHMe
350	H	PhCH ₂	Boc	H	PhCH ₂	CO ₂ Me

351	H	PhCH ₂	Boc	H	PhCH ₂	CONHMe
352	Ph	H	H	H	H	CO ₂ Me
353	Ph	H	H	H	H	CONHMe
354	Ph	H	PhCH ₂	H	H	CO ₂ Me
355	Ph	H	PhCH ₂	H	H	CONHMe
356	Ph	H	Fmoc	H	H	CO ₂ Me
357	Ph	H	Fmoc	H	H	CONHMe
358	Ph	H	Boc	H	H	CO ₂ Me
359	Ph	H	Boc	H	H	CONHMe
360	H	H	H	Ph	H	CO ₂ Me
361	H	H	H	Ph	H	CONHMe
362	H	H	PhCH ₂	Ph	H	CO ₂ Me
363	H	H	PhCH ₂	Ph	H	CONHMe
364	H	H	Fmoc	Ph	H	CO ₂ Me
365	H	H	Fmoc	Ph	H	CONHMe
366	H	H	Boc	Ph	H	CO ₂ Me
367	H	H	Boc	Ph	H	CONHMe
368	Ph	H	H	Ph	H	CO ₂ Me
369	Ph	H	H	Ph	H	CONHMe
370	Ph	H	PhCH ₂	Ph	H	CO ₂ Me
371	Ph	H	PhCH ₂	Ph	H	CONHMe
372	Ph	H	Fmoc	Ph	H	CO ₂ Me
373	Ph	H	Fmoc	Ph	H	CONHMe
374	Ph	H	Boc	Ph	H	CO ₂ Me
375	Ph	H	Boc	Ph	H	CONHMe

376	H	H	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
377	H	H	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
378	H	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
379	H	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
380	H	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
381	H	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe
382	H	H	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
383	H	H	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe
384	H	PhCH ₂	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
385	H	PhCH ₂	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
386	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
387	H	PhCH ₂	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
388	H	PhCH ₂	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
389	H	PhCH ₂	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe
390	H	PhCH ₂	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
391	H	PhCH ₂	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe
392	Ph	H	H	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
393	Ph	H	H	H	CH ₂ OH	CONHMe
394	Ph	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
395	Ph	H	PhCH ₂	H	CH ₂ OH	CONHMe
396	Ph	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
397	Ph	H	Fmoc	H	CH ₂ OH	CONHMe
398	Ph	H	Boc	H	CH ₂ OH	CO ₂ Me
399	Ph	H	Boc	H	CH ₂ OH	CONHMe



4. Le composizioni farmaceutiche secondo le rivendicazioni 1-3, caratterizzate dal fatto di comprendere inoltre eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili.

5. Uso dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II) come definiti nella rivendicazione 1 per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale, di patologie da immunodeficienza acquisita legate a ridotta o assente biodisponibilità di NGF, di condizioni in cui si debba stimolare la crescita endoteliale e per il trattamento di patologie oculari scelte tra glaucoma e cheratiti.

B 2 2 2 A 0 0 0 1 0 7

6. Uso dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II) secondo la rivendicazione 5, in cui dette malattie neurodegenerative del sistema nervoso centrale sono scelte tra malattia di Alzheimer, sclerosi laterale amiotrofica (ALS), neuropatie, danni neurali secondari da ipossia, ischemia o trauma, processi coinvolgenti apoptosi, e malattia di Huntington.

7. Uso dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II) secondo la rivendicazione 5, in cui detta patologia da immunodeficienza acquisita è l'immunodeficienza dell'anziano.

8. Uso dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II) secondo la rivendicazione 5, in cui, dette condizioni in cui si debba stimolare la crescita endoteliale sono

scelte tra infarto del miocardio, ictus, aneurismi cerebrali, ulcere gastro-duodenali, riparazione di ferite e vasculopatie periferiche.

9. Uso dei derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e/o loro dimeri di formula generale (II) come definiti nella rivendicazione 1 come reagenti per promuovere la crescita e/o la sopravvivenza in vivo, in vitro o ex vivo di cellule neurali.

10. Derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) come definiti nella rivendicazione 1, ad esclusione dei composti indicati con i seguenti numeri:

1,2,5,7,8,9,10,12,13,17,19,20,21,32,34,35,36,38,40,44,58,60,64,65,66,
70,75,76,77,78,79,83,87,91,95,99,101,103,138,145,152,154,163,164,
168,172,174,176,178,184,186,190,320,322,

e definiti come nella rivendicazione 3.

11. I derivati 3-aza-biciclo[3.2.1]ottani di formula generale (I) e loro dimeri di formula generale (II) secondo la rivendicazione 10, scelti tra i composti indicati con i seguenti numeri:

3,4,6,11,14-16,18,22-31,33,37,39,41-43,45-57,59,61-63,67-69,71-74,80-
82,84-86,88-90,92-94,96-98,100,102,104-137,139-144,146-
151,153,155-162,165-167,169-171,173,175,177,179-183,185,187-
189,191-319,321,323-399,

e definiti come nella rivendicazione 3.

FI 2002 A 000107

(BRA)

Firenze, 18 Giugno 2002

p. Antonio GUARNA, Federico COZZOLINO,

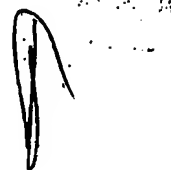
Maria TORCIA, Enrico GARACI

il Mandatario


Dr.ssa Silvia Brazzini

della NOTARBARTOLO & GERVASI

H . A 00107

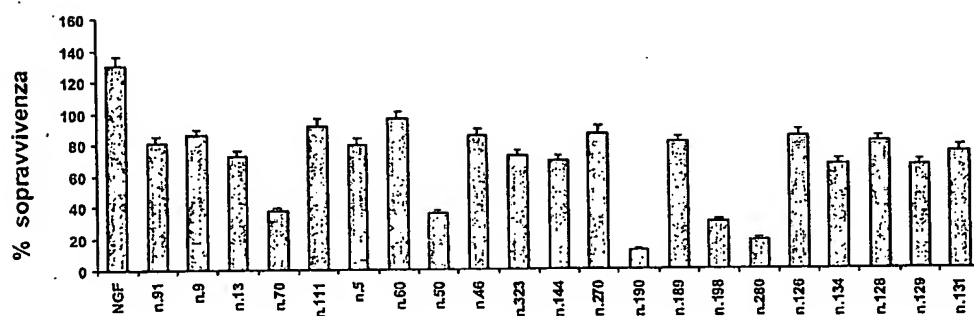


3519 PTIT

[Signature]
Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

Figura 1

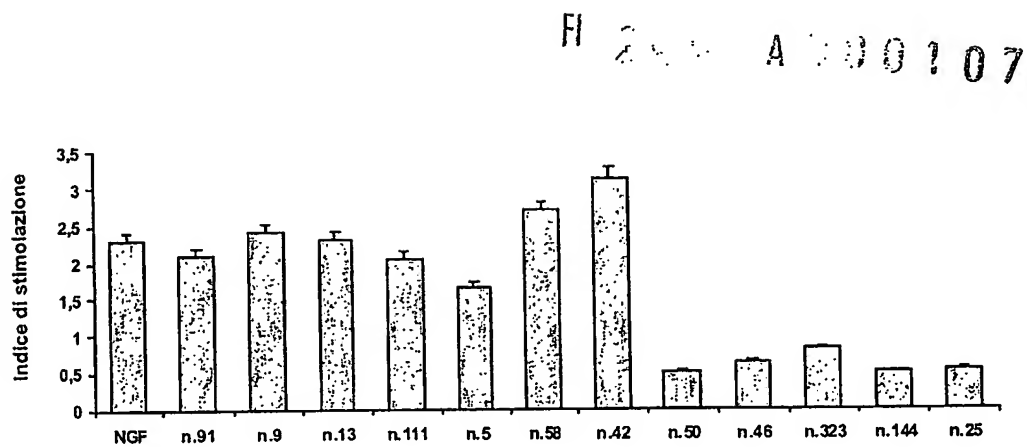
FI : 02.000107



[Signature]



Figura 2



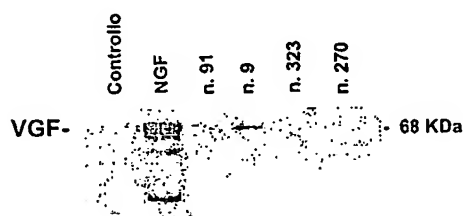
Salvo Bazzani

3519 PTIT

SPB Regg
Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

Figura 3

FI 2 A 220107



3519 PTIT

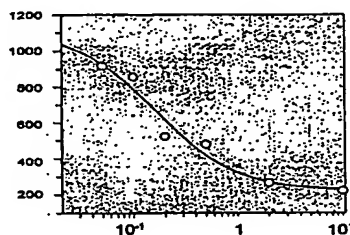
Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

Figura 4a

FI

A 000107

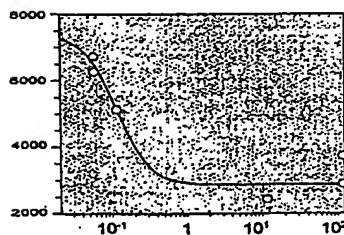
$K_d = 165 \text{ nM} \pm 0.05$



n. 9 (μM)

Figura 4b

$K_d = 114 \text{ pM} \pm 0.01$



NGF (nM)

3519 PTIT

Spillo Bazzani
Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

Figura 5

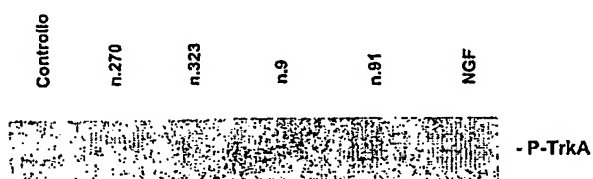
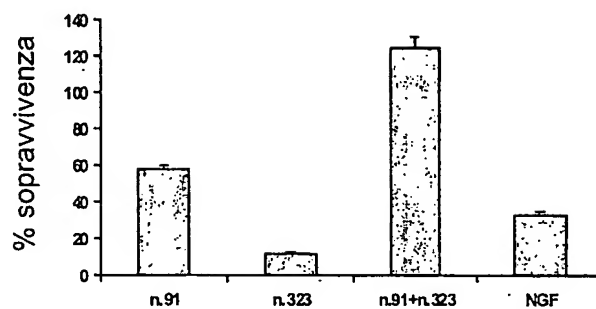


Figura 6



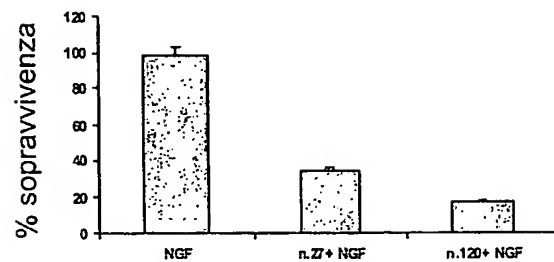
+NGF

3519 PTIT

SP16 Segg
Notarbartolo & Gervasi S.p.A.

Figura 7

FI : : A 300107



10/11/2011
10/11/2011
10/11/2011